

METHODEN ZUR BEURTEILUNG
DER SCHILDDRÜSENFUNCTION BEIM GEFLÜGEL
UND ANDEREN HAUSTIEREN

Eberhard Scherzinger

1969
—



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für
Tierzucht und Tierernährung
der

Freien Universität Berlin

Direktor: Professor Dr. Kurt Bronsch

Methoden zur Beurteilung der Schilddrüsenfunktion
beim Geflügel und anderen Haustieren

INAUGURAL - DISSERTATION

zur

Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin

an der

Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Eberhard Scherzinger

Tierarzt

aus Villingen

Berlin 1969

Journal-Nr. 649

Gedruckt mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen
Fakultät der Freien Universität Berlin

Dekan: Prof. Dr. K. Bronsch

Referent: Prof. Dr. K. Bronsch

Korreferent: Prof. Dr. Dr. K. Drepper

Tag der mündlichen Prüfung: 12. Februar 1969



INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I. EINLEITUNG	1
II. LITERATUR	2
A. Jodaufnahme der Schilddrüse	3
B. Schilddrüsenhormonsynthese	11
C. Hormonabgabe der Schilddrüse	13
D. Transport der Hormone im Blut	19
E. Abbau der Schilddrüsenhormone in der Peripherie	24
F. Jodausscheidung	25
Eigene Versuche	
III. ARBEITSPLAN	26
IV. MATERIAL UND METHODIK DER TIERVERSUCHE	29
A. Versuchstiere: Haltung, Fütterung und Behandlung	29
B. Radioaktivitätsmessung	30
C. Die verschiedenen Untersuchungsmethoden	32
1. Bestimmung der thyreoidalen Jodidclearance	32
2. Untersuchung des intrathyreoidalen Radiojodstoffwechsels	34
3. Bestimmung des proteingebundenen Radiojods	38
4. Der T 3-J ¹³¹ in vitro-Kohleadsorptionstest	39
V. ERGEBNISSE	42
A. Die thyreoidale Jodidclearance	42
B. Der intrathyreoidale Radiojodstoffwechsel	42
C. Das proteingebundene Radiojod	45
D. Der T 3-J ¹³¹ in vitro-Kohleadsorptionstest	45
VI. DISKUSSION	49
A. Zur thyreoidalen Jodidclearance	49
B. Zu den Untersuchungen des intrathyreoidalen Radiojodstoffwechsels	50
C. Zur Bestimmung des proteingebundenen Radiojods	52
D. Zum T 3-J ¹³¹ in vitro-Kohleadsorptionstest	53
E. Vergleich der verschiedenen Methoden	55
VII. ZUSAMMENFASSUNG	58
VIII. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	60
IX. LITERATURVERZEICHNIS	61

I. EINLEITUNG

Der Einfluß der Schilddrüsenfunktion auf die verschiedenen tierischen Nutzleistungen wie Wachstumsrate, Fruchtbarkeit, Milch- und Legeleistung ist heute allgemein bekannt. Es konnte vielfach nachgewiesen werden, daß eine Reihe von Substanzen, die in der Tierernährung zur Produktionssteigerung eingesetzt werden, indirekt über eine Beeinflussung der Schilddrüsentätigkeit wirken. Andererseits wird eine Schädigung der Schilddrüse durch Drogen, bestimmte Futtermittelbestandteile oder mangelhafte Ernährung vom tierischen Organismus mit Leistungsabfall beantwortet. In diesem Zusammenhang kommt der Schilddrüsenfunktionsprüfung bei landwirtschaftlichen Nutzieren zunehmende Bedeutung zu.

Seit der Einführung des Radiojods in die Schilddrüsenfunktionsdiagnostik ist eine Vielzahl von Methoden zur Messung der Schilddrüsentätigkeit beschrieben worden. Der diagnostische Aussagewert der einzelnen Methoden ist im Hinblick auf eine exakte Beurteilung der Schilddrüsentätigkeit zum Teil unbefriedigend. Darüber hinaus erfordern manche, besonders beim Großtier angewandte Verfahren, eine aufwendige apparative Ausrüstung, die nicht in jedem Fall vorhanden ist.

Mir wurde deshalb von Herrn Prof. Dr. K. BRONSCH die Aufgabe gestellt, einige neuere, teilweise beim Menschen erprobte Methoden zur Messung der Schilddrüsenfunktion auf ihre Anwendbarkeit beim Geflügel und bei anderen Haustieren zu untersuchen.

II. LITERATUR

Das Hauptkriterium für die Funktionstüchtigkeit der Schilddrüse ist die hormonelle Leistung des Organs, welche allgemein als tägliche Hormonsekretionsrate (TSR) pro Körpergewichtseinheit angegeben wird. Die meisten Untersuchungsmethoden beschränken sich darauf, bestimmte Parameter der Schilddrüsenfunktion zu messen, die aber unter gewissen Voraussetzungen in einer direkten Beziehung zur thyreoidalen Hormonsekretion stehen.

In Abbildung 1 soll unter Vernachlässigung unbedeutender Nebenwege zunächst ein einfaches Modell der wichtigsten Phasen des intra- und extrathyreoidalen Jodkreislaufes dargestellt werden. Mit Hilfe einer Tracerdosis Radiojod, das im Organismus den gleichen chemischen und biologischen Veränderungen unterworfen ist wie das stabile Jod, kann man den Jodumsatz durch Aktivitätsmessungen an verschiedenen Stellen des Jodzyklus direkt verfolgen.

Im Zusammenhang mit einem kurzen Abriß der Grundlagen der Schilddrüsenphysiologie wird nachfolgend eine Übersicht über die wichtigsten in der Literatur bei Mensch und Tier beschriebenen Funktionsteste gegeben. Die unüberschaubar große Anzahl von Veröffentlichungen auf dem Gebiet der Schilddrüsenfunktionsdiagnostik macht eine Auswahl notwendig. Es werden deshalb vorwiegend die beim Geflügel beschriebenen Verfahren berücksichtigt, die jedoch im Prinzip auch bei anderen Haustieren Anwendung finden. Durch eine ergänzende Darstellung einiger neuer, bisher nur beim Menschen erprobter Untersuchungsmethoden wird ein Überblick über den derzeitigen Stand der Schilddrüsenfunktionsdiagnostik erhalten.

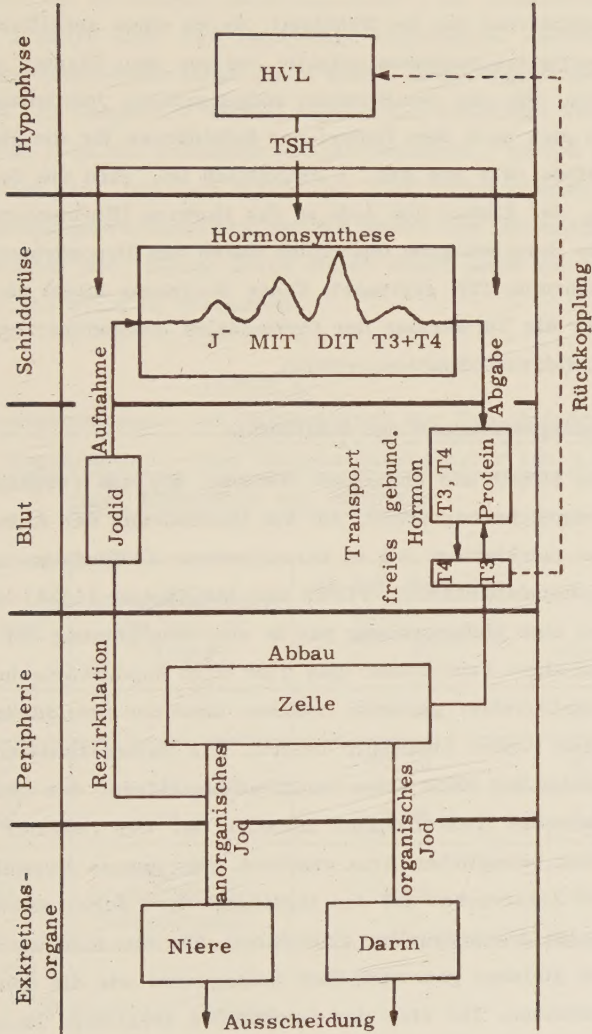


Abb. 1 Einfaches Modell des Jodstoffwechsels

A. Jodaufnahme der Schilddrüse

Die Schilddrüse hat die Fähigkeit, durch einen spezifischen Konzentriermechanismus selektiv Jod aus dem Plasma anzureichern. Die aus der Blutbahn aufgenommene Jodidmenge richtet sich nach dem Bedarf der Schilddrüse für die Hormonproduktion. Wie aus Abb. 1 ersichtlich ist, wird die Jodaufnahme, der Einbau des Jods in das Hormon (Hormonsynthese) und die Hormonabgabe einheitlich durch das Hypophysenvorderlappenhormon TSH gesteuert. Diese Beziehung bildet die Grundlage für die Verwertung der thyreoidalen Jodspeicherung bei der Schilddrüsenfunktionsprüfung.

1.) Radiojodaufnahme der Schilddrüse

Die älteste und einfachste Methode, die den Vorgang der Jodspeicherung erfaßt, ist die Bestimmung der Aufnahme von markiertem Jod zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Radiojodapplikation. PIPES und Mitarbeiter (1958) beschrieben eine Meßanordnung zur in vivo-Bestimmung der J^{131} -Aufnahme beim Huhn. Das Tier wird kopfabwärts in einen Metalltrichter gesteckt, welcher über der Schilddrüsenregion einen runden Ausschnitt besitzt. Die Radioaktivitätsmessung erfolgt mit Hilfe eines Szintillationszählers, der von einem konischen Bleikollimator umgeben ist. Der Detektor ist an einen beweglichen Arm montiert. Die genaue Einstellung der Zählerachse auf das Meßobjekt wird durch einen 15 cm langen Abstandshalter erleichtert. Ein Standard wird unter den gleichen geometrischen Bedingungen wie die Schilddrüse gemessen. Die über der Schilddrüse erhaltenen Impulswerte werden nach Korrektur durch Subtraktion des Nulleffektes in Prozent der Standardimpulsrate angegeben.

Nach dieser Methode bestimmten HENDRICH und TURNER (1963) die 24-Stunden-Radiojodaufnahme der Schilddrüse bei 2 Jahre alten New Hampshire-Legehennen, nachdem diese verschieden lange einer kalten Umgebungstemperatur ($4,4^{\circ}\text{C}$) ausgesetzt worden waren. Bei denselben Tieren wurde auch die Zeitdauer ($t_{1/2}$) bestimmt, welche erforderlich war, bis nach maximaler Radiojodspeicherung die Schilddrüsenradioaktivität auf die Hälfte des Maximalwertes gesunken war. Einige Daten dieser Arbeit sind aus folgender Übersicht zu entnehmen.

Tabelle 1

Radiojodaufnahme und Halbwertszeit der Radiojodabgabe
bei Legehennen in einer Umgebungstemperatur von $4,4^{\circ}\text{C}$
(nach HENDRICH und TURNER)

Gruppe ¹⁾	Aufenthaltsdauer bei $4,4^{\circ}\text{C}$ (Tage)	24 Std.-Radiojod- aufnahme (% der injizierten Dosis ²⁾)	$t_{1/2}$ (Tage)
I	1	12,63	3,83
II	3	17,15	3,97
III	34	7,21	7,40
IV	Kontrolle (Aufenthalt bei Zimmertemp.)	8,02	6,27

1) 7 - 8 Tiere pro Gruppe

2) s.c. injiz. Radiojoddosis: $45\ \mu\text{Ci NaJ}^{131}$

Eine andere Methode zur Messung der Radiojodaufnahme wurde von ROGLER und Mitarbeitern (1961) angegeben:

Die Tiere werden 4 Stunden nach Radiojodgabe getötet; anschließend werden die Schilddrüsen herauspräpariert und der Radiojodgehalt im Bohrlochdetektor gemessen.

Bei White Leghorn-Hennen, welche 11 Monate lang eine Diät mit unterschiedlichem Jodgehalt erhielten, wurden die Schilddrüsen Gewichte und die Radiojodaufnahme 4 Stunden nach i.p. Injektion von $0,5 \mu\text{Ci NaJ}^{131}$ gemessen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 zusammengestellt.

Tabelle 2

Einfluß von verschiedenem Jodgehalt des Futters auf
die Radiojodaufnahme und die Schilddrüsen Gewichte

Gruppe	Anzahl der Tiere	Jodgehalt der Futter- ration (p.p.b.)	4 Std.-Radiojod- aufnahme (% der injiz. Dosis)	Schilddrüsen- gewichte ¹⁾ (mg/100 g K.gewicht)
I	4	10 - 19	70,9	9,80
II	4	50	55,2	7,94
III	5	100	41,8	9,56
IV	4	300	11,9	9,95
V	7	1000	7,2	11,71

1) Die relativen Schilddrüsen Gewichte der einzelnen Gruppen waren nicht signifikant voneinander unterschieden.

Die genannten zwei Beispiele (Tab. 1 und 2) lassen bereits erkennen, daß unterschiedliche Radiojodaufnahmewerte nicht in jedem Fall auch verschiedene Funktionszustände der Schilddrüse reflektieren müssen.

Der Anstieg der Radiojodaufnahme im 1. Beispiel läßt zwar auf eine Steigerung der Schilddrüsenfunktion nach plötzlichem Absinken der Umgebungstemperatur schließen. Dafür spricht auch die beschleunigte Radiojodabgabe ($t \frac{1}{2}$). Nach einer längeren Anpassungszeit scheint sich aber die Schilddrüsenfunktion wieder zu normalisieren.

Die um den Faktor 10 verschiedenen Aufnahmewerte zwischen Gruppe I und V in Tab. 2 gehen jedoch sicher nicht allein a conto einer veränderten Schilddrüsenaktivität. Diese große Differenz müßte sich im Falle einer gleichwertigen Funktionsänderung wenigstens in einem signifikanten Unterschied der Schilddrüsengewichte bemerkbar machen.

Um die Grenzen des Aussagewertes der Radiojodaufnahme im Hinblick auf eine Beurteilung der Schilddrüsenfunktion aufzuzeigen, sollen nachfolgend die wichtigsten Faktoren genannt werden, welche unabhängig vom Funktionszustand der Schilddrüse die Radiojodspeicherung beeinflussen:

Resorptionsgeschwindigkeit des Radiojods

Das Radiojod kann oral, subcutan, intramuskulär, intraperitoneal und intravenös appliziert werden. Besonders bei der ersten Applikationsart ist mit individuellen Unterschieden in der Resorptionsgeschwindigkeit zu rechnen. KEENAN und Mitarbeiter (1953) haben darauf hingewiesen, daß die 24 Stunden-Radiojodaufnahme beim Küken nach s.c. Injektion

der Testdosis höher ist als nach oraler Verabreichung, was darauf hindeutet, daß im Darm keine vollständige Resorption des Radiojods erfolgt. Bei der Messung früher Aufnahmewerte werden die Ergebnisse durch eine langsame Resorption verzerrt, so daß sich hier allein die intravenöse Applikation empfiehlt.

- Plasmajodidspiegel (PII)

Beim Menschen schwankt der PII-Spiegel zwischen 0,01 und 1 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ Plasma (SANCHEZ MARTIN, 1967). Die Jodid-clearance der Niere wird durch Jodmangel nicht verändert; es gibt also keine renale Homöostase dieses Elements. Auch beim Geflügel wird der PII-Spiegel weitgehend vom Jodangebot mit der Nahrung bestimmt.

Die inkorporierten radioaktiven Jodatome vermischen sich zunächst mit den inaktiven Jodatomten des extrathyreoidalen Jodidraumes, der sich aus dem Blut und dem Extravasalraum zusammensetzt. Sobald ein Verteilungsgleichgewicht erreicht ist, stehen beide Substanzen in einer festen quantitativen Beziehung zueinander und nehmen in dieser Relation am Stoffwechsel teil. Bei hohem PII-Spiegel ist die spezifische Aktivität, d.h. das Verhältnis der radioaktiven zu den inaktiven Jodatomten, niedrig, und umgekehrt resultiert aus niederem PII-Spiegel eine hohe spezifische Aktivität. Da jedoch die pro Zeiteinheit von der Schilddrüse aufgenommene absolute Jodmenge in weiten Bereichen vom PII unabhängig ist, liegt es auf der Hand, daß bei hohem PII anteilmäßig weniger Radiojodatome aufgenommen werden als bei niederem und umgekehrt.

- Renale Jodidclearance

Die Abwanderung des im extrathyreoidalen Jodidraum verteilten Radiojods erfolgt im wesentlichen durch einen zweifachen Clearanceprozeß, an dem neben der Schilddrüse auch die Nieren beteiligt sind. Die Radiojodaufnahme der Schilddrüse ist von dem Verhältnis thyreoidale/renale Clearance abhängig (BERSON und Mitarbeiter, 1952). Ändert sich dieses Verhältnis durch einseitige Schwankungen der renalen Clearance, so wird dadurch zwangsläufig auch die Radiojodaufnahme beeinflußt.

- Zeitpunkt der Radiojodaufnahmemessung

Nach PREMACHANDRA und Mitarbeitern (1958) wird die maximale Radiojodaufnahme beim Huhn 24 Stunden nach Radiojodaufnahme erreicht. In vielen Fällen wird die Radiojodaufnahme zu diesem Zeitpunkt gemessen. JOYET (1965) wies darauf hin, daß beim Menschen die Messung der Radiojodaufnahme nach der üblichen Zeitspanne von 24 Stunden praktisch wertlos ist. Noch mehr trifft dies auf Grund des schnellen Jodumsatzes für das Küken zu, da zu diesem Zeitpunkt schon ein großer Teil des Radiojods die Schilddrüse in Hormonform verlassen hat und nach Dejodierung in der Peripherie teilweise erneut der Schilddrüse zugeführt wird. Ein später Aufnahmewert wird also durch eine Reihe von Faktoren beeinflußt, welche seine Interpretation erschweren. Zur alleinigen Erfassung der Jodidphase sind deshalb frühe Aufnahmewerte - z.B. nach 1 oder 2 Stunden - besser geeignet.

- Meßgeometrie

Der Messung früher Aufnahmewerte sind Grenzen gesetzt, die in der Meßtechnik begründet sind. PIPES und Mitarbeiter (1958)

wiesen darauf hin, daß es auf Grund der anatomischen Lage der Küken-Schilddrüse innerhalb des Thorax unmöglich ist, die Schilddrüsenaktivität ohne gleichzeitige Erfassung eines Teiles der extrathyreoidalen Aktivität zu messen. Die paarig angeordnete Schilddrüse liegt beim Huhn in der Nähe des von der A. carotis communis und der A. subclavia gebildeten Gefäßwinkels (ELLENBERGER-BAUM, 1943). Die räumliche Distanz des Schilddrüsenpaares erfordert die Festlegung einer relativ großen Feldgröße des Detektors. Durch die enge Nachbarschaft zum Herzen und den davon abgehenden großen Gefäßen wird zwangsläufig ein großer Teil der Körperaktivität miterfaßt, welche in einem sehr frühen Stadium die eigentliche Schilddrüsenradioaktivität übertreffen kann. Bei der Bestimmung früher Aufnahmewerte ist deshalb die in vitro-Messung der Schilddrüsen im Bohrlochdetektor nach der Methode von ROGLER und Mitarbeitern (1961) vorzuziehen.

- Hypophysäre Stressreaktionen

Es muß damit gerechnet werden, daß die Tiere durch die verschiedenen Manipulationen bei der Versuchsdurchführung in eine Stresssituation versetzt werden. Dadurch kann es zu einer vermehrten TSH-Ausschüttung der Hypophyse kommen, die wiederum eine beschleunigte Radiojodaufnahme zur Folge hat.

2.) Jodidclearance der Schilddrüse

Die thyreoidale Radiojodclearance stellt eine präzisere Variante der Aufnahmeteste dar. Man versteht darunter das fiktive Plasmavolumen, das pro Zeiteinheit durch die Schilddrüse von Radiojod und zugleich auch von stabilem Jod befreit wird

(BERSON, 1952). Ihr Vorteil gegenüber der Messung einzelner Aufnahmewerte besteht darin, daß sie einmal von kurzfristigen Schwankungen der renalen Jodidclearance unabhängig ist, und zum anderen eine quantitative Aussage über die Radiojodspeicherungsrate ermöglicht.

Für den Menschen sind verschiedene Methoden zur Berechnung der thyreoidalen Jodidclearance angegeben worden. Eine einfache Methode, die im Prinzip auch beim Geflügel anwendbar ist, wird von WAYNE und Mitarbeitern (1964) beschrieben.

Man bestimmt den Aufnahmegradianten (B - A) zweier früherer Aufnahmewerte mit relativ kurzem zeitlichen Abstand voneinander, z.B. 1 und 2¹/₂ Stunden nach Radiojodgabe. In der Mitte dieses Zeitraumes wird eine Blutprobe entnommen und die durchschnittliche Plasma-Radiojodkonzentration (C) gemessen. Die thyreoidale Clearance (T.Cl) wird nach folgender Formel berechnet:

$$T.Cl. = \frac{B - A}{C \times 90} \quad \left(\frac{ml}{min}\right)$$

(90 ist die Zeit in Minuten zwischen den beiden Messungen der Radiojodaufnahme). Die Werte werden unter Bezug auf die Körperoberfläche oder das Gewicht korrigiert, um verschieden große Individuen besser miteinander vergleichen zu können.

Zu den Faktoren, die den Wert der thyreoidalen Clearance außer der jeweiligen Funktionslage des Schilddrüsenparenchyms bestimmen, gehört in erster Linie der PII-Spiegel. Innerhalb der physiologischen Grenzen des Plasmajodspiegels verhält sich die thyreoidale Clearance weitgehend umgekehrt proportional zum PII.

3.) Absolute Jodaufnahme der Schilddrüse

Die absolute Jodmenge, welche pro Zeiteinheit von der Schilddrüse gespeichert wird (AIU), stellt noch einen wesentlich sichereren Index für die Schilddrüsenfunktion dar als die thyreoidale Radiojodclearance. Ihre Berechnung setzt die Kenntnis der thyreoidalen Clearance und des PII voraus:

$$\text{AIU } (\mu\text{g/min}) = \text{T.Cl. (ml/min)} \times \text{PII } (\mu\text{g/ml})$$

Wegen der äußerst geringen PII-Konzentration im Blut ist die chemische Bestimmung bisher routinemäßig nicht durchführbar.

B. Schilddrüsenhormonsynthese

Das in die Schilddrüse eingetretene Jodid wird bei fehlender unphysiologischer Blockierung sofort an die jodaffinen Tyrosinradikale gebunden (SCHMIDT und Mitarbeiter, 1965). Ein vereinfachtes Schema über den Einbau des Jods in das Hormon ist in Abbildung 2 dargestellt.

Unter der Voraussetzung, daß das aufgenommene Radiojod die einzelnen Hormonvorstufen in einer bestimmten zeitlichen Reihenfolge "durchläuft", kann aus dem Verhältnis der einzelnen Radiojodfraktionen zueinander in einem definierten Zeitpunkt nach der Radiojodapplikation auf die Geschwindigkeit des intrathyreoidalen Jodstoffwechsels geschlossen werden. Diese wiederum ist eng korreliert mit dem Funktionszustand der Schilddrüse.

Abbildung 3 zeigt eine Zeitstudie der Radiojodverteilung in den einzelnen chromatographisch getrennten Hormonfraktionen in der Rattenschilddrüse. Ist anfangs das Radiojod fast ausschließlich in der MIT-Fraktion und nur zu einem geringen Prozentsatz in der

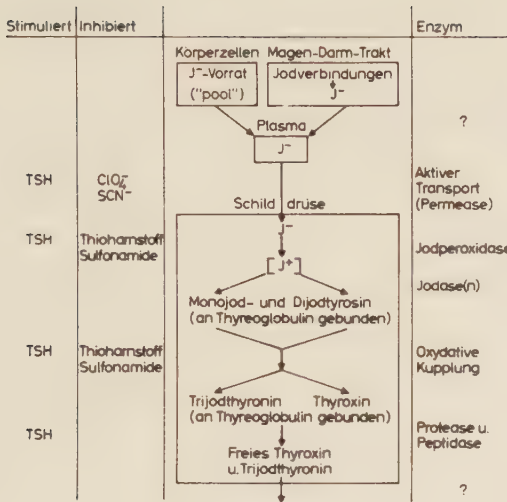


Abb. 2. Intrathyreoidaler Jodstoffwechsel
(nach Decker , 1963)

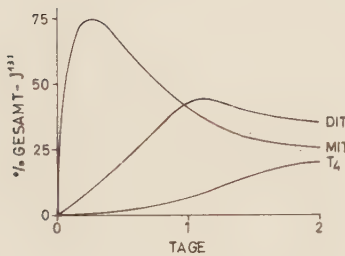


Abb. 3. Radiojodverteilung in der Rattenschilddrüse in
Abhängigkeit von der Zeit nach Radiojodgabe (nach
PITT-RIVERS und TATA, 1959)

DIT- und T 4-Fraktion zu finden, so ändert sich zu einem späteren Zeitpunkt das Verhältnis zugunsten der beiden letztgenannten Fraktionen.

ROSENBERG und Mitarbeiter (1964) fanden, daß beim Küken der Radiojodeinbau in die Schilddrüsenhormone und ihre Vorstufen ähnlich abläuft wie bei der Ratte. Das Verteilungsbild des Radiojods in der Schilddrüse zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Radiojodgabe wird nach diesen Autoren durch folgende Faktoren bestimmt:

- Funktionszustand der Schilddrüse

Bei hoher Schilddrüsenfunktion vollzieht sich der Einbau des Radiojods schneller als bei niedrigerer Funktion.

- Größe des intrathyreoidalen organischen Jodpools

Hier ist zu unterscheiden zwischen dem anatomischen und dem funktionell aktiven Jodpool. Das aufgenommene Radiojod vermischt sich zunächst mit dem funktionell aktivsten Teil des gesamten intrathyreoidalen Jodraumes. Je kleiner dieser aktive Jodpool ist, desto schneller passiert das Radiojod die Schilddrüse. Erst nach 2 - 4 Tagen hat sich das Radiojod beim Küken homogen auf den gesamten Jodraum verteilt. Danach bleibt das Verteilungsbild des Radiojods in den einzelnen Fraktionen über einen längeren Zeitraum konstant und entspricht der tatsächlichen relativen Verteilung der verschiedenen jodierten Aminosäuren in der Schilddrüse. Unabhängig vom Funktionszustand der Schilddrüse ist sowohl die Größe des gesamten intrathyreoidalen Jodraumes als auch die relative Verteilung der einzelnen Jodfraktionen weitgehend von der exogenen Jodzufuhr mit der Nahrung abhängig.

C. Hormonabgabe der Schilddrüse

Das in der Schilddrüse gebildete Hormon (T 3 und T 4) wird an Thyreoglobulin gebunden und in den Follikellumina gespeichert. Erst für die Inkretion wird es aus diesem Verband befreit. Nach der Ausschüttung breiten sich die Hormone in den extrathyreoidalen Hormonjodraum aus. Im Blut werden sie reversibel an Plasmaproteine gebunden, wobei ein kleiner Teil (beim Menschen etwa 1 %) auch dissoziiert vorkommt. Das freie Hormon ist wahrscheinlich die "Stellgröße" in dem von der Peripherie, dem Hypothalamus, der Hypophyse und der Schilddrüse gebildeten Reglersystem, über das die Schilddrüsenfunktion gesteuert wird.

1.) Die Bestimmung des proteingebundenen Radiojods (PBI^{131})

Die Konzentration des markierten Hormonjods im Blut - z.B. 24 Stunden nach Radiojodverabreichung - ist ein relatives Maß für die Geschwindigkeit der Hormonausschüttung. Der Hormonanteil läßt sich, da er an Serumproteine gebunden ist, durch Eiweißfällung mit Trichloressigsäure oder über einen geeigneten Ionenaustauscher (z.B. Amberlite IRA-400) leicht abtrennen.

HOLLAND (1963) prüfte bei 22 Tage alten White Leghorn Küken die Wirkung von DL-Thyroxin bzw. Propylthiouracil auf das proteingebundene Radiojod. 24 Stunden nach i.p. Verabreichung von 6 - 8 $\mu\text{Ci NaJ}^{131}$ entnahm er eine Blutprobe, bestimmte die J^{131} -Gesamtaktivität von 1 g Plasma, fällte anschließend das PBI^{131} mit Trichloressigsäure aus und drückte die Aktivität des Präzipitats in Prozent der Gesamtplasmaaktivität aus (% PBI^{131}). Einige Daten dieser Arbeit sind in Tabelle 3 aufgeführt.

Tabelle 3

Wirkung von Thyroxin und Propylthiouracil
auf das PBI¹³¹ beim Küken
 (nach HOLLAND, 1963)

Gruppe	Anzahl der Tiere	Behandlung	% PBI ¹³¹ (nach 24 Std.)
I	10	Kontrolle	70,39 + 2,96
II	10	40 µg DL - T 4/ Tier	54,99 + 2,12
III	10	0,1 % PTU (16 Tage lang im Futter)	19,43 + 4,47

Den prozentualen Anteil des eiweißgebundenen Radiojods am Gesamtplasmaradiojod bezeichnet man im humanmedizinischen Schrifttum gewöhnlich als Konversionsrate. KOUTRAS und Mitarbeiter (1961) haben jedoch mit Recht darauf hingewiesen, daß dieser Quotient eine sehr komplexe Größe darstellt, die auf Grund der zahlreichen Faktoren, welche die Gesamtplasmaaktivität beeinflussen, biologisch schwer zu deuten ist. Es ist deshalb besser, die Konzentration des PBI¹³¹ auf die applizierte Dosis zu beziehen und z.B. in % Dosis/Liter Plasma anzugeben.

Selbstverständlich ist das PBI¹³¹ kein Maß für die absolute Menge des inkretierten Hormons. Abgesehen vom Funktionszustand der Schilddrüse wird die PBI¹³¹-Konzentration durch folgende Faktoren beeinflusst:

- Prozentuale Radiojodaufnahme

Die Zusammenhänge, welche die Höhe der Radiojodaufnahme bestimmen, wurden bereits früher erläutert (vgl. Kap. A.1).

- Größe des intrathyreoidalen austauschbaren Jodpools

In einem kleinen Pool wird das aufgenommene Radiojod weniger verdünnt als in einem großen und daher auch

- gleiche Hormonsekretionsrate vorausgesetzt - pro Zeiteinheit vermehrt ausgeschüttet.

- Größe des extrathyreoidalen Hormonjodraums

Die Konzentration des ausgeschütteten markierten Hormons ist von der Größe seines Verteilungsraumes abhängig. Da dieser in einem annähernd konstanten Verhältnis zum Körpergewicht steht (BERSON und YALOW, 1954), empfiehlt es sich, bei größeren Gewichtsunterschieden das Körpergewicht als Bezugsgröße anzugeben.

2.) Hormonsekretionsrate (TSR)

Es sind beim Geflügel mehrere Versuche gemacht worden, um die tägliche Hormonsekretionsrate quantitativ zu bestimmen. Diese Methoden sollen hier nur im Prinzip angedeutet werden; im übrigen sei auf die zusammenfassende Darstellung mit den entsprechenden Literaturangaben von SINGH und Mitarbeitern (1968) verwiesen.

a) Kropf-Verhinderungsmethode

Die Tiere werden in mehrere Gruppen eingeteilt und über längere Zeit mit einem Thyreostaticum (Tapazol, PTU) behandelt. Gleichzeitig wird den Tieren täglich eine gruppenweise zunehmende T 4-Menge injiziert. Diejenige T 4-Menge, welche bei den Tieren eine Kropfbildung verhindert, wird als tägliche Thyroxinsekretionsrate angesehen.

b) T 4-Substitutionsmethode nach PIPES und Mitarbeiter (1958)

Die TSR/Tag wird bestimmt als die minimale Menge von täglich verabreichtem T 4, welche vollständig die Ausschüttung von bereits vorher injiziertem Radiojod aus der Schilddrüse blockiert. Die J^{131} -Abgabe wird durch in vivo-Messung der Schilddrüsenradioaktivität kontinuierlich über mehrere Tage verfolgt. Da die J^{131} -Abgabe auf Grund der Rezirkulation des Radiojods sehr langsam verläuft, wird die erneute Aufnahme von bereits metabolisiertem Radiojod gewöhnlich durch Verabreichung eines Thyreostaticums verhindert. Daraufhin werden dem Tier täglich zunehmende T 4-Mengen injiziert. Wenn die verabreichte T 4-Menge der täglichen Hormonsekretionsrate entspricht, blockiert das exogen zugeführte T 4 über den Rückkopplungsmechanismus die Ausschüttung von TSH aus der Hypophyse und damit auch die J^{131} -Abgabe aus der Schilddrüse. Die maximale Radiojodretention ist also der Indikator für die funktionelle Ruhigstellung der Schilddrüse durch exogen zugeführtes T 4. Nach dieser Methode kann die TSR sowohl in Gruppen als auch am Einzeltier bestimmt werden.

c) Direkte Jodausschüttungsmethode

Wie bei der Substitutionsmethode wird durch tägliche Messung der Schilddrüsenradioaktivität die Radiojodabgaberate bestimmt. Danach werden die Tiere getötet und der Gesamtjodgehalt der Schilddrüse chemisch bestimmt. Die TSR ergibt sich aus folgendem Produkt:

tägliche Abgaberate x thyreoidaler Gesamtjodgehalt
x 1,529 (T 4-Jod-Äquivalent).

d) T 4-J¹³¹ Umsatzmethode

Diese Methode geht von der Annahme aus, daß unter Gleichgewichtsbedingungen diejenige Menge T 4, welche pro Zeiteinheit aus dem extrathyreoidalen Hormonpool durch Abbau- und Ausscheidungsvorgänge entfernt wird, gleich derjenigen T 4-Menge ist, welche in den Pool sezerniert wird.

Nach i.v. Verabreichung einer Tracerdosis T 4-J¹³¹ wird in bestimmten Zeitabständen die Aktivität des PBI¹³¹ im Plasma gemessen und daraus die Umsatzrate (k) des markierten T 4 ermittelt. Aus dem errechneten Thyroxinverteilungsvolumen (TDS) und dem chemisch bestimmten PBI ergibt sich das gesamte extrathyreoidale Thyroxin (ETT) als Produkt aus TDS x PBI x 1,529.

Die gesamte pro Zeiteinheit umgesetzte T 4-Menge (ETT x k) ist identisch mit der Thyroxinsekretionsrate.

Nach den genannten 4 Methoden wurden von SINGH und Mitarbeitern (1968) bei etwa gleichaltrigen Küken folgende durchschnittliche TSR-Werte gefunden:

Methode	tägliche TSR (µg T 4/100 g K. gew.)
Kropf-Verhinderungsmethode	2,32
T 4-Substitutionsmethode,	
mit Anwendung von Thyreostatica	4,14
ohne Anwendung von Thyreostatica	2,00
Direkte Jodausschüttungsmethode	1,20
T 4-J ¹³¹ Umsatzmethode	2,03

Bei einem Vergleich dieser Werte fallen teilweise erhebliche Differenzen auf, die Veranlassung zu einer Kritik der einzelnen Methoden geben.

ad a + b)

Bei den Substitutionsmethoden wird das körpereigene Hormon durch exogen zugeführtes T 4 ersetzt. Das T 4 wird dabei nur einmal am Tag injiziert. Auf Grund der kurzen biologischen Halbwertszeit des T 4 beim Geflügel (HWZ: 7 - 8 Stunden, nach HENDRICH und TURNER, 1967) kann es jedoch nicht gleichgültig sein, ob das T 4-Quantum gleichmäßig über den ganzen Tag verteilt wird, oder ob es in einer einzigen Portion am Tag verabreicht wird.

Ferner ist bekannt, daß Thyreostatica nicht nur die Hormonsynthese in der Schilddrüse blockieren, sondern auch die Dejodierung der Hormone in der Peripherie hemmen (ESCOBAR DEL REY u. Mitarb., 1962). Von diesem extrathyreoidalen Effekt wird auch das zur Substitution verwendete T 4 betroffen, was zu einer Verfälschung der Ergebnisse führt. Darüber hinaus bewirkt die Verabreichung von Thyreostatica eine Störung des auf ein bestimmtes Niveau eingespielten Rückkopplungsmechanismus, so daß feinere Abstufungen in der Schilddrüsenfunktion nicht mehr erfaßt werden können.

ad c)

Die direkte Jodausschüttungsmethode beruht auf den beiden Grundannahmen, daß einerseits das Radiojod in homogener Verteilung in der Schilddrüse vorliegt, andererseits nur Jod in hormoneller Form in die Blutbahn abgegeben wird. Nach neueren Untersuchungen von ROSENBERG u. Mitarb. (1964) werden diese Voraussetzungen nur zum Teil erfüllt.

Es wurde nachgewiesen, daß auch anorganisches Jod von der Schilddrüse abgegeben wird. Dieses wird bei der Bestimmung der J^{131} -Abgaberate miterfaßt. Eine homogene Verteilung des

Radiojods wird beim Küken erst nach ca. 3 Tagen erreicht. Vorher wird relativ mehr Radiojod als stabiles Jod abgegeben, da das neu aufgenommene Radiojod zuerst den funktionell aktiven intrathyreoidalen Jodpool passiert, bevor es sich nach und nach auf den gesamten Jodraum der Schilddrüse verteilt.

ad d)

Bei der T 4-J¹³¹ Umsatzmethode wird das chemisch bestimmte PBI zur Berechnung des gesamten extrathyreoidalen Thyroxins (ETT) in T 4-Äquivalenten angegeben (Faktor 1,529). Es wird dabei nicht berücksichtigt, daß beim Küken etwa 40 % des PBI auf T 3 entfallen (WENTWORTH, MELLEN, 1961). Auch unter der Annahme, daß beim Küken sowohl T 3 als auch T 4 mit gleicher Geschwindigkeit umgesetzt werden (SHELLABARGER und TATA, 1961), muß das Verhältnis der beiden Hormone bei der Berechnung des extrathyreoidalen Hormonpools berücksichtigt werden, wenn die Methode exakte Ergebnisse liefern soll.

ad a - d)

Es muß bei allen Methoden damit gerechnet werden, daß die Belastung der Versuchstiere durch die notwendigen wiederholten Messungen, Injektionen oder Blutentnahmen zu Stressreaktionen führt, wodurch ursprünglich bei den einzelnen Tieren vorhandene Unterschiede der Schilddrüsenfunktion verdeckt werden können.

D. Transport der Hormone im Blut

Im Serum befinden sich spezifische Trägerproteine für die Schilddrüsenhormone. Beim Menschen wird der größte Teil des T 4 reversibel an ein inter α -Globulin (TBG) gebunden. Daneben läßt sich T 4 noch in der Albumin- (TBA) und Präalbuminfraktion (TBPA)

nachweisen. Nur etwa 1 ‰ des T 4 findet sich in freier, biologisch aktiver Form im Blut (GRÄNICHER, 1967). T 3 wird in ähnlicher Verteilung, wenn auch mit geringerer Affinität gebunden.

1.) Indirekte Bestimmung des Schilddrüsenhormonspiegels
im Blut (T 3-J¹³¹ in vitro-Test)

Die freie Bindungskapazität der Serumproteine hängt vom Funktionszustand der Schilddrüse ab. Die Absättigung der Bindungsvalenzen ist größer bei Hyper- und geringer bei Hypothyreose. Auf diesen Erkenntnissen basiert der T 3-J¹³¹ in vitro-Test, der in neuerer Zeit beim Menschen zunehmende Verbreitung findet.

Das Prinzip des Verfahrens besteht in einer indirekten Messung der Hormonkonzentration im Blut. Wird einem Serum in vitro eine geringe Menge markiertes T 3 zugesetzt, so wird der Anteil des gebundenen T 3-J¹³¹ von der Anzahl der freien Bindungsstellen bestimmt. Diese wiederum sind abhängig von der Höhe des Hormonspiegels im Blut. Da T 4 mit größerer Affinität gebunden wird als T 3, finden keine nennenswerten Austauschvorgänge zwischen dem im Serum bereits vorhandenen T 4 und dem zugesetzten T 3-J¹³¹ statt.

Die verschiedenen Modifikationen des T 3-J¹³¹ in vitro-Tests unterscheiden sich hauptsächlich in der Wahl der sekundären Akzeptoren für die Abtrennung des nicht gebundenen T 3-J¹³¹.

HAMOLSKY u. Mitarb. (1957) verwendeten die Erythrozyten als Akzeptoren.

MITCHELL (1958) vereinfachte das Verfahren, indem er die Erythrozyten durch Ionenaustauscherharze (z.B. Amberlite IRA 400) ersetzte. Das nicht gebundene T 3-J¹³¹ wird in Ab-

hängigkeit von den äußeren Versuchsbedingungen wie Inkubationszeit, pH und Temperatur irreversibel an das Austauschharz gebunden.

HERBERT u. Mitarb. (1965) benutzten hämoglobin-saturierte Aktivkohle als Adsorptionsmittel für das überschüssige T 3-J¹³¹.

Der Anteil der im Akzeptor gefundenen Aktivität ist umgekehrt proportional zur Reservekapazität der Serumproteine und damit auch ein indirektes Maß für die Schilddrüsenhormonkonzentration im Blut.

Der T 3-J¹³¹ in vitro-Test hat folgende Vorteile:

- Es ist keine in vivo-Anwendung von Radiojod erforderlich. Der Test kann also beliebig oft wiederholt werden.
- Der Test ist einfach durchzuführen und liefert gut reproduzierbare Werte.
- Der Test wird durch unterschiedliche Jodzufuhr mit der Nahrung, die so oft den üblichen Radiojodtest stört, nicht beeinflusst.

Diesen Vorteilen steht der Nachteil gegenüber, daß der Test durch alle extrathyreoidalen Faktoren gestört wird, welche die Hormonbindungskapazität der Serumproteine beeinträchtigen.

Dazu gehören:

- Dysproteinämien bei verschiedenen Krankheiten (Nephrose, Leberzirrhose u. a.)
- Erhöhung der TBG-Konzentration bei Östrogenbehandlung oder während der Schwangerschaft.
- Beeinflussung der Affinität des TBG zu den Schilddrüsenhormonen durch Medikamente wie Salicylate, Butazolidin, Antikoagulantien, Androgene u. a.

Eine ausführliche Zusammenstellung dieser Faktoren mit Literaturhinweisen findet sich bei Picker GmbH, Bulletin 19/1966.

HUTCHINS (1965) überprüfte den T 3-J¹³¹ Erythrozyten-Bebrütungstest bei 9 Wochen alten White Rock Hähnchen. Gruppe I erhielt Thyreoidea sicca (0,1 g/kg Futter), Gruppe II diente als Kontrolle und Gruppe III erhielt PTU über das Trinkwasser verabreicht. Der Test ergab keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen. Nach dem Autor kommen mehrere Ursachen für das Versagen des Tests in Frage:

- Möglicherweise hatte die unterschiedliche Behandlung der einzelnen Gruppen keinen Einfluß auf den Funktionszustand ihrer Schilddrüsen. Da sonst keine anderen Parameter der Schilddrüsenfunktion gemessen wurden, konnte dies nicht ausgeschlossen werden.
- Die kernhaltigen Erythrozyten des Geflügels sind für den Test eventuell ungeeignet.
- Die besonderen Bindungsverhältnisse der Schilddrüsenhormone im Geflügels serum machen den T 3-J¹³¹ in vitro-Test beim Küken vielleicht prinzipiell unmöglich.

SHELLABARGER und TATA (1961) haben die T 3- und T 4-Transportverhältnisse im Geflügels serum ausführlich untersucht. Sie stellten fest, daß dem Geflügel das spezifische Trägerprotein TBG fehlt. Sowohl T 3 als auch T 4 werden stattdessen relativ locker an Albumine gebunden. Die Affinität des Albumins ist beim Küken für beide Hormone etwa gleich stark, während beim Menschen T 4 etwa viermal stärker an TBG gebunden wird als T 3. Die Intensität der Bindung ist eng korreliert mit der Diffusionsgeschwindigkeit der Hormone ins Gewebe und bestimmt damit

deren biologische Aktivität. Diese Tatsachen erklären die gleichen biologischen Halbwertszeiten von T 3 und T 4 beim Geflügel, wogegen beim Menschen und den meisten Säugetieren T 3 etwa drei- bis viermal schneller umgesetzt wird als T 4.

2.) Direkte Bestimmung des Schilddrüsenhormonspiegels im Blut

Die Höhe des Hormonspiegels ist beim Menschen ein guter Indikator für die von der Schilddrüse der Peripherie zur Verfügung gestellte Hormonmenge. Hier muß allerdings einschränkend gesagt werden, daß die Konzentration eines Stoffes im Blut wenig über die kinetischen Aspekte seines Umsatzes auszusagen vermag. Ein geringer Anstieg der Konzentration kann schon mit einem beträchtlich erhöhten Umsatz einhergehen.

Die am häufigsten benutzte Methode ist die chemische Bestimmung des PBI. Sieht man davon ab, daß dabei auch ein gewisser Anteil hormonell inaktiver organischer Jodverbindungen mit-erfaßt wird, so hat die Methode vor allem den Nachteil, daß nicht zwischen den biologisch unterschiedlich aktiven Hormonfraktionen (freies Hormon, T 3, T 4) differenziert werden kann.

MELLEN und HARDY (1957) bestimmten das PBI erstmals beim Geflügel. Sie fanden, daß das Küken im Gegensatz zum Menschen und den meisten Säugetieren eine 4 - 5fach geringere PBI-Konzentration im Plasma besitzt ($1,16 \mu\text{g PBI}/100 \text{ ml Plasma}$ als Durchschnittswert). Außerdem zeigte der PBI-Spiegel keine Fluktuation nach experimentell erzeugten Änderungen der Schilddrüsenfunktion. Die PBI-Konzentration im Plasma ist deshalb beim Geflügel als Kriterium für die Schilddrüsenfunktion praktisch wertlos.

Eine einfache Methode zur direkten Bestimmung der Schilddrüsenhormonkonzentration mit Hilfe des $T\ 3\text{-}J^{131}$ in vitro-Tests wird von NAKAJIMA u. Mitarb. (1966) angegeben. Sie hat gegenüber dem konventionellen $T\ 3\text{-}J^{131}$ -Test den Vorteil, daß sie von den zahlreichen extrathyreoidalen Faktoren, welche die Bindungskapazität der Serumproteine beeinflussen, weitgehend unabhängig ist.

In neuerer Zeit sind auch komplizierte Verfahren zur Messung der freien Hormonkonzentration im Serum beschrieben worden. An dieser Stelle sei auf die grundlegende Arbeit von OPPENHEIMER und SURKS (1964) verwiesen.

E. Abbau der Schilddrüsenhormone in der Peripherie

Das freie Hormon diffundiert aus dem Blut in die peripheren Gewebe und wird in der Körperzelle durch Dejodierung, Desaminierung und Decarboxylierung abgebaut. Das frei werdende Jod wird wieder dem extrathyreoidalen Jodidraum zugeführt, von wo es entweder durch die Niere ausgeschieden wird oder aber erneut in die Schilddrüse eintritt (Rezirkulation).

Die organischen Jodstoffwechselprodukte und eine geringe Menge unveränderter Schilddrüsenhormone werden in der Leber an Glukuronsäure oder Sulfate konjugiert und über die Galle in den Darm ausgeschieden (COMAR und BRONNER, 1962).

Die Abbaurate kann durch Messung des peripheren Hormonumsatzes mit Hilfe von markiertem $T\ 3$ oder $T\ 4$ ermittelt werden. Man bestimmt die Halbwertszeit (HWZ), mit der das injizierte Hormon aus der Blutbahn abwandert. Sind als weitere Größen der Hormonverteilungsraum (TDS) und das PBI bekannt, läßt sich aus diesen drei Parametern die Hormonsekretionsrate berechnen (vgl. Kap. C, 2 d).

Da das PBI beim Geflügel nachweislich sehr niedrig ist und zudem kaum Schwankungen aufweist (MELLEN und HARDY, 1957), wäre zu prüfen, ob die HWZ der Hormonabwanderung für sich allein nicht schon ein gutes Kriterium für die Beurteilung der Schilddrüsenfunktion beim Geflügel darstellt. Mit Hilfe einer Ganzkörperzählordnung ließe sich die HWZ auch ohne die umständlichen wiederholten Blutprobenentnahmen ermitteln.

INGBAR und FREINKEL (1955) haben darauf hingewiesen, daß beim Menschen eine enge Beziehung zwischen der T 4-J¹³¹ Umsatzrate einerseits und der Schilddrüsen-speicherung des bereits metabolisierten Radiojods andererseits besteht. Hier zeigen sich neue Perspektiven für einen einfachen Schilddrüsenfunktionstest, der beim Geflügel einer näheren Untersuchung bedarf.

F. Jodausscheidung

Das anorganische Jod wird fast ausschließlich über die Nieren ausgeschieden. Beim Menschen wurde festgestellt, daß im allgemeinen während der ersten 48 Stunden nach der Radiojodapplikation das über die Nieren ausgeschiedene Radiojod in umgekehrtem Verhältnis zur Schilddrüsenaufnahme steht (FRASER u. Mitarb., 1953). In der Praxis wird nach fraktionierter Harnsammlung die Urinaktivität gemessen und die Radiojodausscheidung als indirektes Maß für die Schilddrüsen-speicherung gewertet.

Ist schon der Aussagewert der 24 Stunden-Radiojodaufnahme im Hinblick auf eine Beurteilung der Schilddrüsenfunktion beim Küken fraglich, so gilt dies noch mehr für die Radiojodausscheidung mit den Kloakenexkreten, da zahlreiche störende Faktoren, von denen nur unregelmäßiger Kotabsatz und Nierenkrankheiten genannt sein sollen, eine Unzuverlässigkeit des Verfahrens bedingen. Die Messung der Radiojodausscheidung dient deshalb nur zur groben Orientierung über die Höhe der thyreoidalen Radiojodspeicherung.

Eigene Versuche

III. ARBEITSPLAN

Aus dem großen Spektrum an isotopentechnischen Verfahren zur Messung der Schilddrüsenfunktion werden vier verschiedene, z.T. beim Menschen bewährte Untersuchungsmethoden auf ihre Anwendbarkeit beim Geflügel untersucht. Der von HERBERT u. Mitarb. (1965) beschriebene T 3-J¹³¹ in vitro-Kohleadsorptionstest soll zusätzlich auch beim Rind, Schwein, Schaf und Hund erprobt werden.

A. Die Jodidclearance der Schilddrüse.

Gewöhnlich wird die Radiojodaufnahme beim Küken zu einem Zeitpunkt gemessen, in dem schon ein großer Teil des Radiojods die Schilddrüse passiert hat. Dadurch wird die Interpretation der Radiojodaufnahmewerte in Beziehung auf die Schilddrüsenfunktion unklar. Die üblichen in vivo-Messungen liefern außerdem beim Küken wegen des großen geometrischen Unsicherheitsfaktors aus bereits dargelegten Gründen ungenaue Ergebnisse.

Mit Hilfe einer J¹³¹/J¹²⁵-Doppelmarkierung soll versucht werden, am gleichen Tier durch in vitro-Messung der Schilddrüsen im Bohrlochdetektor zwei frühe Aufnahmewerte (30 und 120 Minuten) zu ermitteln. Aus dem Aufnahmegradianten und der mittleren Plasma-radiojodkonzentration desselben Zeitraumes kann die thyreoidale Jodidclearance berechnet werden. Im Zusammenhang mit Experimenten über den Ca-Stoffwechsel beim Küken wird die Jodidclearance an zwei Gruppen von Tieren mit verschiedenen Ca-Dosierungen in der Futterration bestimmt.

B. Der intrathyreoidale Radiojodstoffwechsel

Die bisherigen Untersuchungen des intrathyreoidalen Jodstoffwechsels dienten vor allem dem Studium des Jodraffungsmechanismus und der Hormonsynthese. Beim Menschen werden vereinzelt bei Verdacht auf Hormonsynthesestörungen radiochromatographische Untersuchungen an Schilddrüsenhydrolysaten durchgeführt (DIMITRIADOU u. Mitarb., 1963). Wegen der dazu erforderlichen Biopsie des Schilddrüsengewebes hat das Verfahren aber keinen Eingang in die routinemäßige Schilddrüsenfunktionsdiagnostik gefunden.

Es bleibt zu prüfen, inwieweit das Verteilungsbild der chromatographisch getrennten Radiojodfraktionen von Schilddrüsenhydrolysaten zu einem definierten Zeitpunkt nach der Radiojodapplikation ein brauchbarer Indikator für die Geschwindigkeit des intrathyreoidalen Jodumsatzes und damit auch für die Schilddrüsenfunktion darstellt. Hierzu werden insgesamt drei verschiedene Versuche durchgeführt.

Dem 1. Versuch liegen dabei folgende Fragestellungen zugrunde:

- Wie ändert sich das Verteilungsbild des Radiojods zeitlich 12 und 36 Stunden nach Radiojodapplikation?
- Welche Unterschiede zeigt das Verteilungsbild bei normaler, stimulierter und gehemmter Schilddrüsenfunktion?

Der 2. Versuch soll Aufschluß darüber geben, wie sich eine graduelle Blockierung der Schilddrüse durch zunehmende exogene T 4-Substitution auf die Radiojodaufnahme und die Verwertung des Radiojods zur Hormonsynthese auswirkt.

Im 3. Versuch soll untersucht werden, wie sich die Radiojodspeicherwerte und das intrathyreoidale Verteilungsbild des Radiojods in einem frühen (3 Stunden) gegenüber einem späteren Zeitpunkt (12 Stunden) nach Radiojodgabe verhalten.

C. Das proteingebundene Radiojod (PBI^{131})

In den wenigen beim Kücken beschriebenen Untersuchungen über das PBI^{131} wird dieses in Prozent des gesamten Plasmaradiojodgehaltes angegeben ($\% \text{PBI}^{131}$). Dieser Index wird gewöhnlich als "Konversionsrate" bezeichnet und ist ein Maß für die Geschwindigkeit des Radiojodumsatzes. Da diese Relativzahl auf Grund der zahlreichen die Plasmagesamtaktivität bestimmenden Faktoren eine sehr komplexe Größe mit unklarer Bedeutung ist, wird nach KOUTRAS u. Mitarb. (1961) das PBI^{131} besser in Prozent der injizierten Dosis pro 100 ml Plasma angegeben.

Bei 3 Gruppen von Mastkücken mit normaler, stimulierter und gehemmter Schilddrüsenfunktion soll festgestellt werden, inwieweit die Konzentration des PBI^{131} ($\% \text{Dosis}/100 \text{ ml Plasma}$) zu zwei verschiedenen Zeitpunkten nach Radiojodgabe (12 und 24 Stunden) ein brauchbares Kriterium für die Geschwindigkeit der Hormonsekretion darstellt.

D. Der T 3-J 131 in vitro-Kohleadsorptionstest

Der von HAMOLSKY u. Mitarb. (1957) eingeführte T 3-J 131 in vitro-Erythrozytenbebrütungstest wurde von HUTCHINS (1965) ohne Erfolg auf seine Anwendbarkeit beim Geflügel untersucht. Aus dieser Arbeit wird jedoch nicht klar, ob der T 3-J 131 in vitro-Test beim Geflügel prinzipiell nicht anwendbar ist.

Zur Klärung dieser Frage soll die T 3-J 131 in vitro-Bindung der Serumeiweiße vergleichend beim Kücken und bei verschiedenen Haus-säugetieren anhand des von HERBERT u. Mitarb. (1965) angegebenen T 3-J 131 -Kohleadsorptionstests untersucht werden.

IV. MATERIAL UND METHODIK DER TIERVERSUCHE

A. Versuchstiere: Haltung, Fütterung und Behandlung

Die in vivo-Radiojodversuche wurden an 6 - 8 Wochen alten männlichen Nichols-Lohmann-Mastküken durchgeführt. Die Tiere waren gruppenweise in Batterien aufgestellt und erhielten mit Ausnahme eines Versuchs (vgl. Kap. C, 1) ein Geflügelmastalleinfutter mit folgenden analytisch ermittelten Bestandteilen:

22,2 % Rohprotein, 4,4 % Rohfett, 2,5 % Rohfaser,
1,0 % Calcium, 0,8 % Phosphor.

Die errechnete produktive Energie dieser Ration betrug 2192 Kcal/kg Futter.

Für den T 3-J¹³¹ in vitro-Test wurden Mischseren mehrerer Tierarten verwendet:

- Rind (Deutsches schwarzbuntes Rind)
- Schaf (Deutsches schwarzköpfiges Fleischschaf)
- Schwein (Deutsches veredeltes Landschwein)
- Hund (verschiedene Rassen)
- Huhn (HNL-Legehennen)

Die Seren wurden in Portionen bei -20° C eingefroren und bei Bedarf aufgetaut.

Zur experimentellen Beeinflussung der Schilddrüsenfunktion wurden folgende Substanzen verwendet:

- TSH (Thyreotropes Hormon, lyophilisiert, vom Rind)¹⁾
- Thyroxin (Na-l-Thyroxin, B grade)¹⁾
- Tapazol (1-Methyl-2-mercaptoimidazol)

(zum Wirkungsmechanismus vgl. Teil II, Abb. 2).

¹⁾ geliefert von Calbiochem, Luzern

Sämtliche Substanzen wurden in physiologischer Kochsalzlösung intramuskulär verabreicht. Na-l-Thyroxin wurde zuvor - meist in Mengen von 10 mg - in 1 ml 0,1 n NaOH gelöst und mit 0,9 % NaCl-Lösung auf die gewünschte Konzentration verdünnt. Die Dosierung erfolgte unter Bezug auf das Körpergewicht.

B. Radioaktivitätsmessung

1.) Verwendete Radionuklide

Die von der Fa. Hoechst bezogenen radioaktiv markierten Substanzen sind nachfolgend aufgeführt:

- NaJ^{131} bzw. NaJ^{125} : trägerfrei, in steriler physiologischer NaCl-Lösung
- T 3- J^{131} (Thybon- J^{131}): gelöst in Propylen-glykol-Wasser 1:1, spezifische Aktivität 30 mCi/mg T 3.

2.) Strahlenmeßgeräte

a) Autogamma-Spektrometer

Die Messung der J^{131} - bzw. J^{125} -Aktivität erfolgte mit Hilfe des Autogamma-Spektrometers 5018 in Kombination mit dem Tri-Carb-Scintillationsspektrometer 4312 (Fa. Packard Instrument GmbH.). Das Gerät erlaubt die gleichzeitige Ausmessung jeder Probe in 3 einzeln einstellbaren, voneinander unabhängigen Kanälen. Auf Grund der unterschiedlichen γ -Energien von J^{131} und J^{125} können die beiden Isotope durch entsprechende Einstellung der Diskriminatoren spektrometrisch getrennt werden. Die jeweils eingestellten Energiemeßbereiche bei einfach- bzw. doppelmarkierten Proben sind aus folgender Übersicht zu entnehmen:

Tabelle 4

Isotop	γ -Strahlungs- energien (keV)	eingestellter Energiebereich (keV) bei	
		Einfachmarkierung	Doppelmarkierung
J^{131}	<u>360</u> ; 640 u. a.	50 - 500	250 - 500
J^{125}	<u>35</u>	25 - 50	30 - 42,5

Bei der gewählten Einstellung zur spektrometrischen Trennung von J^{131} und J^{125} erschienen 10 % der J^{131} -Impulse im J^{125} -Kanal, während umgekehrt im J^{131} -Kanal weniger als 0,01 % J^{125} -Impulse registriert wurden. Da die Impulsraten beider Isotope in vergleichbarer Höhe gemessen wurden, konnte der J^{125} -Anteil im J^{131} -Kanal praktisch vernachlässigt werden, so daß sich die J^{125} -Nettoimpulsrate über eine einfache Differenzrechnung ermitteln ließ.

b) Radiopapierchromatograph

Zur Auswertung von radioaktiv markierten Papierchromatogrammen wurde der Radiopapierchromatograph FH 452 (Fa. Friesecke u. Höpfner) in Verbindung mit dem Strahlungsmeßgerät FH 49 benutzt. Über das Registriergerät FH 585 mit Potentiometerschreiber wurde die lineare Aktivitätsverteilung auf den Papierstreifen automatisch aufgezeichnet. Einzelne technische Daten über die Einstellung des Gerätes sind aus Abb. 4 (siehe Teil V) ersichtlich.

3.) Wahl der Bezugsgröße

Sämtliche Meßwerte wurden auf einen unter vergleichbaren Bedingungen gemessenen Standard bezogen, der meist durch mehrfache Verdünnung der radiojodhaltigen Injektions- oder Gebrauchslösungen hergestellt wurde.

4.) Impulszählstatistik

Je nach Höhe der einzelnen Impulsraten wurden die Proben 1; 5 oder 10 Minuten gemessen. Die minimalen Meßzeiten wurden so gewählt, daß noch mit 95,4 % Wahrscheinlichkeit bei einer Wiederholung der Messung (n) ein Meßwert innerhalb der Vertrauensgrenze ($n \pm 2 \sigma$) lag.

C. Die verschiedenen Untersuchungsmethoden

1.) Bestimmung der thyreoidalen Jodidclearance

Die Jodidclearance der Schilddrüse wurde bei 2 Gruppen von genetisch einheitlichen, 8 Wochen alten Mastküken bestimmt, deren Futterration lediglich einen unterschiedlichen Calciumanteil enthielt. Beide Gruppen erhielten als Grundration ein an Calcium und Phosphor armes, aber in seiner sonstigen Zusammensetzung optimales Geflügelmastalleinfutter. Durch Zumischung von Calciumcarbonat und Dinatriumphosphat wurde der Calcium- bzw. Phosphorgehalt der Grundration auf folgende Werte ergänzt:

Gruppe I: 0,8 % Calcium und 0,6 % Phosphor

Gruppe II: 1,4 % Calcium und 0,6 % Phosphor

Jede Versuchsgruppe bestand aus 10 Küken. Trinkwasser und Versuchsration standen den Tieren bis zum Zeitpunkt der Radiojodinjektion frei zur Verfügung.

a) Versuchsablauf

Zur Messung der thyreoidalen 30 und 120 Minuten-Radiojodaufnahme wurden jedem Tier zuerst $0,6 \mu\text{Ci NaJ}^{125}$ und 90 Minuten später $0,6 \mu\text{Ci NaJ}^{131}$ in die Flügelvene injiziert. Das Injektionsvolumen betrug 1 ml.

120 Minuten nach der NaJ^{125} -Injektion wurden die Tiere durch Dekapitieren getötet und entblutet. Dabei wurden von jedem Küken ca. 20 ml Blut aufgefangen. Das geronnene Blut wurde zentrifugiert und 1 ml des abgetrennten Serums zur Aktivitätsmessung in ein Probeglas pipettiert. Anschließend wurden bei jedem Tier die paarig angeordneten Schilddrüsen herauspräpariert. Die J^{125} - und J^{131} -Aktivität der Schilddrüsen bzw. des Serums wurde im Bohrlochdetektor spektrometrisch gemessen und das Ergebnis in Prozent der injizierten Dosis ausgedrückt.

b) Clearanceberechnung

Die Jodidclearance der Schilddrüse wurde nach der von WAYNE u. Mitarb. (1964) für den Menschen angegebenen Methode berechnet. Diese einfache Methode hat sich in der praktischen Schilddrüsenfunktionsdiagnostik bewährt, obwohl die tatsächliche Clearance nur annäherungsweise bestimmt wird.

$$\text{Thyreoidale Clearance} = \frac{B - A}{C \times 90} \quad \left(\frac{\text{ml}}{\text{min}} \right)$$

Für die einzelnen Symbole wurden die nachstehenden Werte eingesetzt:

A = 30 Minuten-Radiojodaufnahme (% Dosis)

B = 120 Minuten-Radiojodaufnahme (% Dosis)

C = arithmetisches Mittel der 30 und 120 Minuten-Serumradiojodkonzentration (% Dosis/ml Serum)

Die Werte der thyreoidalen Clearance wurden unter Bezug auf das Körpergewicht korrigiert, wodurch die Dimensionsangabe "ml/min/1000 g" erhalten wurde.

2.) Untersuchung des intrathyreoidalen Radiojodstoffwechsels

Der Einbau des Radiojods in die Schilddrüsenhormone wurde bei ca. 6 Wochen alten Mastküken in 3 verschiedenen Experimenten untersucht.

a) Durchführung der einzelnen Versuche

Versuch 1

Es wurden 24 Küken in 4 Gruppen zu je 6 Tieren eingeteilt. Gruppe I diente als Kontrollgruppe. Die Tiere der Gruppe II erhielten unmittelbar vor der Radiojodinjektion 0,02 I.E. TSH/100 g Körpergewicht i.m. verabreicht. Den Tieren der Gruppe III wurde dreimal in Abständen von 24 Stunden 1,0 μg Na-1-T 4/100 g Körpergewicht injiziert. Die letzte Injektion erfolgte zusammen mit der Radiojodgabe. In gleicher zeitlicher Abfolge erhielten die Tiere der Gruppe IV 3 x 5,0 mg Tapazol/100 g Körpergewicht.

Jedem Küken wurde die gleiche Testdosis von 90 μCi NaJ¹³¹ i.m. injiziert. Jeweils die eine Hälfte einer Gruppe wurde 12 Stunden, die andere Hälfte 36 Stunden nach Radiojodgabe getötet.

Versuch 2

Aus 70 Küken wurden 7 Gruppen zu je 10 Tieren gebildet. Den einzelnen Gruppen wurden außer der Gruppe I, welche als Kontrolle diente, vor der Radiojodgabe dreimal in 24 stündigem Abstand die folgenden Na-1-T 4-Mengen i.m. verabreicht:

0,25 - 0,50 - 1,0 - 1,5 - 2,0 und 5,0 μg /100 g Körpergewicht

Die letzte Thyroxininjektion erfolgte zusammen mit der Radiojodgabe. Sämtliche Tiere wurden 18 Stunden nach der Injektion von 90 $\mu\text{Ci NaJ}^{131}$ getötet.

Versuch 3

Dieser Versuch wurde an 6 einzelnen Kühen durchgeführt. Den Tieren wurde 12 Stunden vor der Tötung 90 $\mu\text{Ci NaJ}^{125}$ und nach weiteren 9 Stunden noch einmal 100 $\mu\text{Ci NaJ}^{131}$ i.m. injiziert. Unmittelbar nach der Schlachtung wurden die Schilddrüsen herauspräpariert und soweit wie möglich von umliegendem Fett- und Bindegewebe befreit.

b) Chromatographische Trennung der Radiojodfraktionen in der Schilddrüse

Nach einer Reihe von Vorversuchen wurde die Technik mehrerer Autoren (PLASKETT u. Mitarb., 1963; TONG u. Mitarb., 1963; ROSENBERG und LA ROCHE, 1964) so modifiziert, daß sich schließlich folgendes Verfahren ergab:

Homogenisierung der Schilddrüsen

Zu je einem Schilddrüsenpaar wurden im Zentrifugenglas 4 ml Tris-Pufferlösung (pH 8,4) mit nachstehender Zusammensetzung gegeben:

0,15 m NaCl

0,04 m Tris (hydroxymethyl)-aminomethan

0,002 m 1-Methyl-2-mercaptoimidazol

Die Schilddrüsen wurden anschließend mit dem Ultra-Turax (Fa. Janke u. Kunkel) etwa 1 Minute lang unter Eiswasserkühlung homogenisiert.

Enzymatische Hydrolyse des Schilddrüsenhomogenats

Dem Homogenat wurden 0,5 ml einer 5 % Lösung von *Streptomyces griseus*-Protease (Pronase P)¹⁾ in Tris-Puffer zuge-

¹⁾ geliefert von Serva, Heidelberg

zugesetzt. Zur Verhinderung bakterieller Fäulnisprozesse wurden 2 Tropfen Toluol zugegeben. Nach leichtem Schütteln wurden die Gläser mit Gummistopfen verschlossen und die Homogenate 8 Stunden lang im Wasserbad bei 37° C inkubiert.

Extraktion der jodhaltigen Verbindungen

Im Anschluß an die Hydrolyse wurden die Homogenate mit Äthanol/konz. NH_4OH (1:1) auf 10 ml aufgefüllt. Die Extraktionslösung enthielt 0,2 % Serum-Albumin vom Rind¹⁾, welches einen stabilisierenden Effekt auf die Schilddrüsenhormone ausübt und die spontane Dejodierung verhindert. Die Suspension wurde 10 Minuten lang intensiv geschüttelt und anschließend bei 3000 U/min zentrifugiert.

Technik der Papierchromatographie

Von dem Überstand wurden 50 µl in einer Breite von 2,5 cm auf Whatman Nr. 3 MM-Papier gleichmäßig aufgetragen. Anschließend wurden die Papierstreifen 4 Stunden lang zum Äquilibrieren in die dicht verschlossene Chromatographiewanne gehängt. Als Laufmittel wurde n-Butanol - gesättigt mit 2 n-Essigsäure - verwendet. Die Trennung der einzelnen Jodfraktionen erfolgte nach dem Verfahren der aufsteigenden Chromatographie. Nach einer Laufzeit von ca. 12 Stunden wurden die Papiere aus der Wanne herausgenommen und 3 Stunden lang im Luftstrom getrocknet.

Identifizierung der Jodfraktionen

Die chromatographisch getrennten Jodfraktionen wurden nach der Methode von KONO u. Mitarb. (1960) angefärbt und anhand von parallel mitgelaufenen Testsubstanzen (Jodid, MIT,

1) geliefert von Behring, Marburg

DIT, T 3 und T 4) identifiziert. Eine Trennung der T 3- und T 4-Fraktion war bei dem gewählten Laufmittel nicht möglich.

Auswertung der Chromatogramme

Die Aktivitätsverteilung auf den Papierstreifen konnte mit Hilfe des Papierchromatographen FH 452 automatisch registriert werden. Durch Planimetrie der aufgezeichneten Aktivitätskurven ließ sich die relative Radiojodverteilung in den isolierten Fraktionen ermitteln.

Die zweifach markierten Chromatogramme in Versuch 3 wurden nach einem anderen Verfahren ausgewertet. Um die radiojodhaltigen Flecken sichtbar zu machen, wurden die Papiere in engen Kontakt mit einem gewöhnlichen Röntgenfilm (Regulix, Kodak) gebracht. Dieser wurde 3 Tage lang im Kühlschrank belichtet. Anhand der so erhaltenen Autoradiogramme konnten die lageidentischen Flecken auf den Papierchromatogrammen nachgezeichnet und ausgeschnitten werden. Die zusammengefalteten Papierstücke wurden in ein Meßglas gesteckt, um die J^{131} - bzw. J^{125} -Aktivität jeder einzelnen Fraktion spektrometrisch im Bohrlochdetektor zu messen.

Für die Bestimmung der absoluten Radiojodaufnahme wurde die Aktivität eines aliquoten Anteils des ad 10 ml aufgefüllten Schilddrüsenhomogenats gemessen. Als Bezugsgröße wurde ein Standard benutzt, der durch 10 000fache Verdünnung der applizierten Radiojoddosis hergestellt wurde. Das Ergebnis wurde in Prozent der injizierten Dosis ausgedrückt.

3.) Bestimmung des proteingebundenen Radiojods

a) Versuchsablauf

Aus 27 Mastküken im Alter von 8 Wochen wurden 3 Gruppen zu je 9 Tieren gebildet.

Gruppe I wurde als Kontrolle verwendet. Den Tieren der Gruppe II wurden 0,05 I.E. TSH/100 g Körpergewicht injiziert, und die Tiere der Gruppe III erhielten 1,0 $\mu\text{g Na-l-T 4/}$ 100 g Körpergewicht. Unmittelbar danach wurde jedem Tier 180 $\mu\text{Ci NaJ}^{131}$ i.m. verabreicht. 12 Stunden nach der Radiojodgabe wurden von allen Tieren ca. 5 ml Blut aus der Flügelvene entnommen. 2 Tropfen einer 0,2 % Heparinlösung verhinderten die Blutgerinnung. Die Tiere wurden 24 Stunden nach der Radiojodapplikation getötet. Beim Ausbluten wurde noch einmal von jedem Tier eine Blutprobe aufgefangen.

b) Aufbereitung der Blutproben und Messung des PBI^{131}

Das Blut wurde sofort nach Entnahme bei 3000 U/min zentrifugiert. Von dem abgetrennten Plasma wurden 2 ml in ein Zentrifugenglas pipettiert. Die Proteinausfällung mit Trichloressigsäure erfolgte in Anlehnung an die Methode von BENOTTI, J. und BENOTTI, N. (1963).

Die Aktivität des Eiweißpräzipitats (PBI^{131}) wurde im Bohrlochdetektor gemessen und in Prozent der injizierten Dosis pro 100 ml Plasma angegeben.

4.) Der T 3-J¹³¹ in vitro-Kohleadsorptionstest

a) Testmethode

In Vorversuchen fiel auf, daß sich nach der von HERBERT u. Mitarb. (1965) beschriebenen Technik die Werte nur unbefriedigend reproduzieren ließen. Die genannten Autoren machten zwar bei ihren Untersuchungen dieselbe Feststellung, gaben jedoch keine Erklärung dafür an. Es war deshalb notwendig, die Ursachen dieser schlechten Reproduzierbarkeit aufzudecken und die Methode so abzuändern, daß sie auch für Routineuntersuchungen vergleichbare Ergebnisse lieferte. Eine Zusammenfassung der Ergebnisse dieser Vorversuche folgt in Teil V, D.

Nach Berücksichtigung dieser Ergebnisse ergab sich schließlich nachstehende Technik:

Herstellung der Gebrauchslösungen

Hämoglobinsaturierte Aktivkohle:

0,5 g pulverisiertes Hämoglobin¹⁾ wurden in 200 ml Na-acetat-Veronal-Puffer (Michaelis-Puffer, isotonisch, pH 7,4) gelöst; dazu wurden 5 g Aktivkohle Norit A (Partikelgröße 40 - 70 μ)¹⁾ gegeben. Die Suspension wurde im Kühlschrank bei 4° C aufbewahrt und vor Gebrauch kräftig durchgeschüttelt.

T 3 - J¹³¹-Gebrauchslösung:

Das gelieferte T 3-J¹³¹ hatte beim Eintreffen eine spezifische Aktivität von 30 mCi/mg T 3. 120 μ Ci T 3-J¹³¹ (entspricht 4 μ g T 3) wurden ad 100 ml mit Michaelis-Puffer aufgefüllt. Zur Stabilisierung des T 3-J¹³¹ wurden 350 mg

¹⁾ geliefert von Serva, Heidelberg

Serum-Albumin vom Rind hinzugefügt. Die Lösung wurde bei 4° C aufbewahrt und 3 Wochen lang verwendet. Die chromatographische Prüfung des Reinheitsgrades ergab 1 Woche nach der Herstellung weniger als 2 % Radiojod in der Jodidfraktion.

Arbeitsvorschrift

In ein Zentrifugenglas werden 0,1 ml der T 3-J¹³¹-Gebrauchslösung, 3 ml Michaelis-Puffer und 0,5 ml Serum pipettiert. Das Zentrifugenglas wird 10 sec lang leicht geschüttelt, bis sich der Inhalt gut durchmischt hat, und zur Inkubation 30 min ins Eiswasserbad (4° C) gestellt. Anschließend gibt man 0,5 ml der Kohlesuspension hinzu und inkubiert nach leichtem Schütteln weitere 30 min bei 4° C. Danach wird 5 min bei 3000 U/min zentrifugiert, der Überstand schnell dekantiert und die Aktivität der am Boden des Zentrifugenglases abgesetzten Aktivkohle im Bohrlochdetektor gemessen. Als Standard werden 0,1 ml der T 3-J¹³¹-Gebrauchslösung gemessen. Die T 3-J¹³¹-Adsorption an die Aktivkohle wird in Prozent des Standards angegeben.

b) Anwendung des T 3-J¹³¹-Tests bei verschiedenen Tierarten

Um die Ansprechbarkeit des T 3-J¹³¹-Tests auf verschiedene Thyroxinkonzentrationen im Serum zu überprüfen, wurden dem Serum mehrerer Tierarten (Rind, Schwein, Schaf, Hund, Huhn) zunehmende T 4-Mengen zugesetzt.

Dazu wurden 10 mg Na-l-Thyroxin in 1 ml 0,1 n NaOH und 1 ml Propylenglykol gelöst und mit Michaelis-Puffer soweit verdünnt, daß folgende Konzentrationen erhalten wurden:

0 - 10 - 25 - 50 - 75 - 100 - 125 - 150 - 175 und 200 $\mu\text{g}/$
100 ml.

Jeweils 0,1 ml der frisch hergestellten Na-l-T 4-Lösungen wurden 0,5 ml Serum zugesetzt. Anschließend wurde der Test wie beschrieben durchgeführt. Zur Erhöhung der Genauigkeit erfolgten in allen Fällen Doppelbestimmungen.

V. ERGEBNISSE

Die Ergebnisse der im vorigen Teil beschriebenen Versuche werden nachstehend einzeln dargestellt.

A. Die thyreoidale Jodidclearance

An 2 Gruppen von Mastküken mit unterschiedlichen Ca-Dosierungen im Futter wurden mit Hilfe einer J^{131}/J^{125} -Doppelmarkierung am selben Tier die 30 und 120 Minuten-Radiojodaufnahme gemessen. Aus dem Aufnahmegradienten und der mittleren Serumradiojodkonzentration konnte die thyreoidale Jodidclearance berechnet werden. Die Ergebnisse sind in Tabelle 5 aufgeführt.

Die relativ große Streuung der Einzelwerte in Gruppe I resultiert aus einem extrem vom Gruppenmittelwert abweichenden hohen Aufnahme- und Clearancewert eines Einzeltieres (vgl. Variationsbreite).

Während die mittleren Gewichte beider Gruppen keine signifikanten Unterschiede erkennen lassen, liegen die meisten Aufnahme- und Clearancewerte bei Gruppe II höher als bei Gruppe I. Um zu prüfen, ob diese Unterschiede zufallsbedingt sind, wurde der Rangfolgetest nach WILCOXON angewandt. Der Test ergab, daß bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,01$ sowohl die 30 und 120 Minuten-Aufnahmewerte als auch die thyreoidalen Clearancewerte beider Gruppen signifikant verschieden sind.

B. Der intrathyreoidale Radiojodstoffwechsel

In Versuch 1 wurden die Radiojodaufnahme 12 und 36 Stunden nach Radiojodgabe und die entsprechende Verteilung des Radiojods in den chromatographisch getrennten Jodfraktionen der Schilddrüsenhydrolysate zunächst an einer kleinen Anzahl von Mastküken mit medikamentös erzeugter unterschiedlicher Schilddrüsenfunktion bestimmt.

Tabelle 5
Radiojodaufnahme und thyreoidale Jodidclearance
bei 2 Gruppen von Mastkühen mit unterschiedlicher Ca-Dosierung im Futter

Gruppe	Anzahl der Tiere	Körper- gewichte (g)	Radiojodaufnahme (% der injizierten Dosis)		thyreoidale Clearance (ml/min/1000 g)
			nach 30 Min.	nach 120 Min.	
I 0,8 % Ca	10	1695 ± 211 ¹⁾	5,06 ± 2,18 (2,75 - 10,15) ²⁾	14,71 ± 5,42 (9,19 - 27,67)	0,60 ± 0,24 (0,38 - 1,20)
II 1,4 % Ca	10	1678 ± 240 ¹⁾	7,39 ± 1,01 (5,82 - 8,64) ²⁾	19,21 ± 2,11 (16,19 - 22,02)	0,76 ± 0,10 (0,63 ± 0,95)

1) Gruppendurchschnitt ± Standardabweichung der Einzelwerte

2) Variationsbreite (kleinster - größter beobachteter Wert)

Abbildung 4 zeigt eine Direktschreibung der Radiopapierchromatogramme von 4 Tieren mit normaler, stimulierter und gehemmter Schilddrüsenfunktion. In Tabelle 6 sind die Ergebnisse im einzelnen zusammengestellt.

Wegen der geringen Anzahl von Tieren pro Gruppe wurde von einem statistischen Vergleich der einzelnen Mittelwerte abgesehen. Trotzdem liefern die Befunde bereits einige interessante Hinweise hinsichtlich Richtung und Dynamik des intrathyreoidalen Radiojodstoffwechsels.

Ein Vergleich der 12 Stunden- mit den 36 Stunden-Werten läßt folgende Tendenzen erkennen:

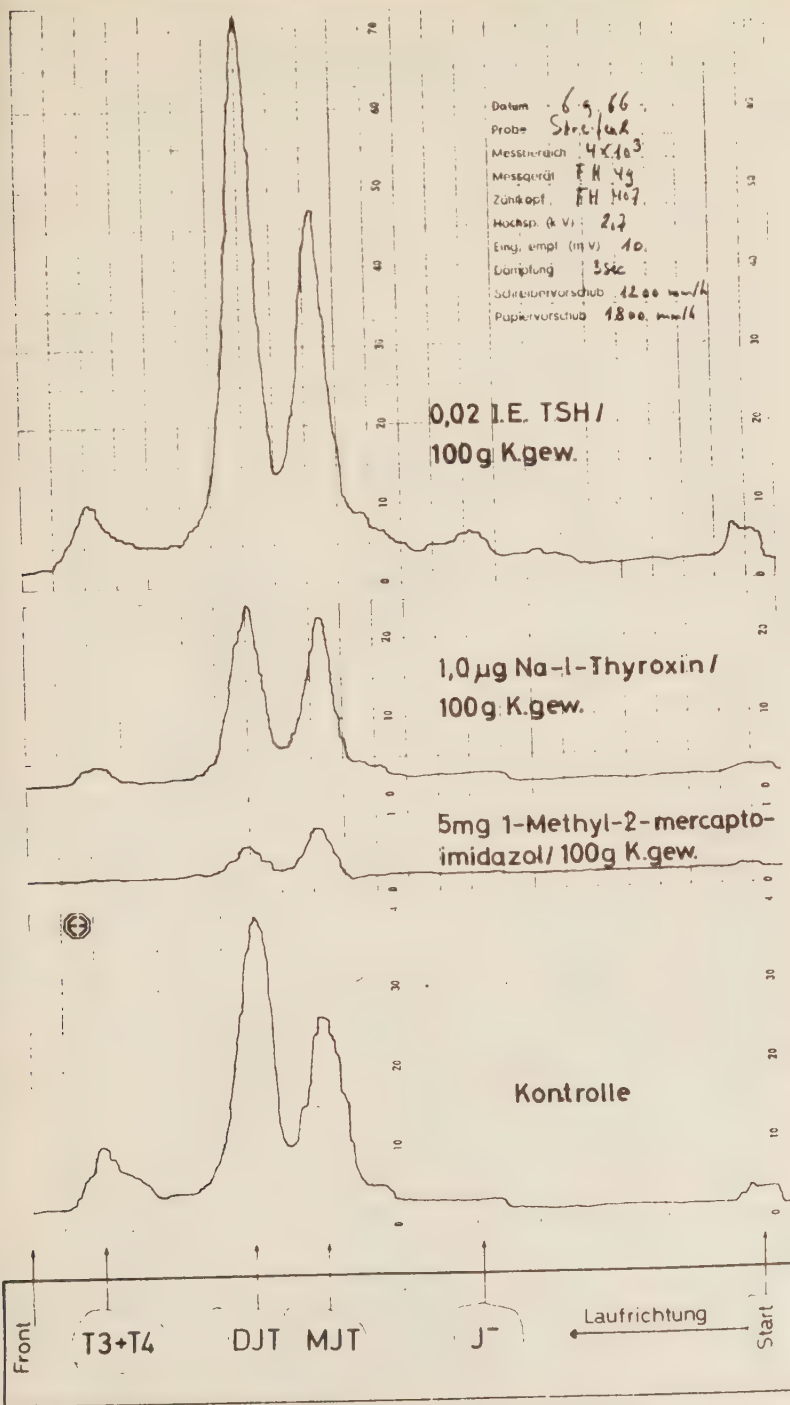
- Die prozentuale Radiojodaufnahme ändert sich zwischen 12 und 36 Stunden nur unwesentlich.
- Der Radiojodgehalt in der Hormonfraktion (T 3 + T 4) ist bei allen Gruppen nach 36 Stunden größer als nach 12 Stunden.
- Das Verhältnis DIT/MIT ist mit Ausnahme der TSH-Gruppe nach 36 Stunden höher als nach 12 Stunden.

Bei den mit TSH behandelten Küken ist zu berücksichtigen, daß die Wirkung einer einmaligen TSH-Injektion nur kurze Zeit anhält und nach 36 Stunden bereits wieder abgeklungen ist.

Ein Vergleich der 12 Stunden-Werte zwischen den einzelnen Gruppen mit experimentell erzeugter unterschiedlicher Schilddrüsenfunktion zeigt:

- Die Radiojodspeicherung sowie das DIT/MIT-Verhältnis sind am größten bei stimulierter, am geringsten bei gehemmter Schilddrüse.
- Der relative Radiojodgehalt in der Hormonfraktion ist zwar bei den Tieren mit gehemmter Schilddrüsenfunktion im Vergleich zu den Kontrolltieren geringer, jedoch auch unerwartet niedrig bei den Tieren, die mit TSH behandelt wurden. Dieser Befund wird später diskutiert.

Abb 4. Chromatographische Auftrennung der J-131-Gesamtaktivität in der Schilddrüse 36 Stunden nach intramuskulärer Radiojodinjektion beim Kuku.



Absteigende Chromatographie, Laufmittel: n-Butanol gesättigt mit 2n-Essigsäure

Tabelle 6

Wirkung von TSH, Thyroxin und Tapazol auf die Radiojodaufnahme und die Verteilung des Radiojods in den verschiedenen Jodfraktionen der Schilddrüse 12 und 36 Stunden nach Radiojodapplikation

(Durchschnittswerte von 3 Kühen)

Behandlung	Anzahl der Tiere	Zeit nach J^{131} -Injektion (Stunden)	J^{131} -Aufnahme (% der injiz. Dosis)	Start ¹⁾ (Prozent der Schilddrüsengesamtkaktivität)	Jodid	MIT	DIT	T 3 + T 4	DIT MIT	DIT T 3 + T 4
Kontrolle	3	12	28,1	3,7	4,9	38,5	45,1	7,8	1,17	5,78
	3	36	25,5	2,6	4,1	34,0	45,9	13,4	1,35	3,43
TSH (0,02 I. E. / 100 g Körpergewicht)	3	12	35,8	4,7	4,5	32,1	55,3	3,4	1,72	16,26
	3	36	40,0	4,2	4,2	36,2	47,6	7,8	1,31	6,10
Na-1-Thyroxin (1 µg/100 g Körpergewicht)	3	12	17,9	3,9	4,2	47,0	39,4	5,5	0,84	7,16
	3	36	16,8	2,0	2,9	44,6	44,6	5,9	1,00	7,56
Tapazol (5 mg/100 g Körpergewicht)	3	12	2,3	2,5	30,0	50,0	17,5	-	0,35	-
	3	36	2,4	3,6	8,0	50,9	33,0	4,5	0,65	7,33

1) Zusammenfassung der nichtidentifizierten Fraktionen vom Startpunkt bis zur Jodidfraktion

Tabelle 7

Wirkung zunehmender T 4-Substitution beim Küken auf die Radiojodaufnahme und die

Verteilung des Radiojods in den verschiedenen Jodfraktionen der Schilddrüse

18 Stunden nach Radiojodapplikation

Injizierte Thyroxinmenge ($\mu\text{g}/100\text{ g}$ Körpergewicht)	Anzahl der Tiere	Gesamt J^{131} -Gehalt	Start ¹⁾	Jodid	MIT	DIT	T 3 + T 4
(Prozent der injizierten J^{131} -Dosis) ²⁾							
Kontrolle	10	30,00 $\pm$ 1,81	1,05 $\pm$ 0,26	1,53 $\pm$ 0,15	9,45 $\pm$ 0,97	14,82 $\pm$ 1,12	3,15 $\pm$ 0,46
0,25	10	24,96 $\pm$ 3,40	0,67 $\pm$ 0,11	1,15 $\pm$ 0,17	7,95 $\pm$ 1,32	12,54 $\pm$ 1,65	2,65 $\pm$ 0,48
0,50	10	22,37 $\pm$ 1,64	1,02 $\pm$ 0,20	1,50 $\pm$ 0,16	6,25 $\pm$ 0,71	12,10 $\pm$ 0,96	1,50 $\pm$ 0,23
1,00	10	16,33 $\pm$ 1,95	0,64 $\pm$ 0,15	1,14 $\pm$ 0,10	5,22 $\pm$ 0,60	8,49 $\pm$ 1,33	0,84 $\pm$ 0,33
1,50	10	10,74 $\pm$ 0,88	0,43 $\pm$ 0,09	0,67 $\pm$ 0,10	3,67 $\pm$ 0,32	5,41 $\pm$ 0,70	0,56 $\pm$ 0,08
2,00	10	7,46 $\pm$ 1,40	0,24 $\pm$ 0,07	0,47 $\pm$ 0,14	2,69 $\pm$ 0,74	3,66 $\pm$ 0,45	0,40 $\pm$ 0,10
5,00	10	6,52 $\pm$ 0,66	0,24 $\pm$ 0,02	0,44 $\pm$ 0,06	2,24 $\pm$ 0,43	3,32 $\pm$ 0,30	0,28 $\pm$ 0,07

1) Zusammenfassung der nichtidentifizierten Fraktionen vom Startpunkt bis zur Jodidfraktion

2) Gruppendurchschnittswerte $\pm$ Standardabweichung der Einzelwerte

In Versuch 2 wurde an einer größeren Anzahl von Mastküken die Wirkung graduell zunehmender T 4-Substitution auf die 18 Stunden-Radiojodaufnahme und den Einbau des Radiojods in die verschiedenen jodierten Aminosäuren untersucht. Die Ergebnisse dieses Versuchs sind in Tabelle 7 aufgeführt.

In Abbildung 5 wird der durchschnittliche thyreoidale Gesamt-J¹³¹- bzw. Hormon-J¹³¹-Gehalt der einzelnen Gruppen auf die gleich 100 gesetzten Werte der Kontrollgruppe bezogen. Diese Darstellung zeigt eine kontinuierliche Abnahme des 18 Stunden-Gesamtradiojodgehalts und einen ähnlichen, jedoch steileren Abfall des Hormon-J¹³¹-Gehalts mit zunehmender exogener T 4-Substitution. Bei einer täglichen Dosis von 2,0 µg Na-I-T 4 - also im Bereich des nach den bisherigen Substitutionsmethoden gefundenen täglichen TSR-Äquivalents - nähern sich sowohl der Gesamt-J¹³¹- als auch der Hormon-J¹³¹-Gehalt asymptotisch einem Grenzwert. Die Mittelwertdifferenzen des Gesamtradiojodgehalts zwischen den beiden letzten Gruppen sind statistisch nicht mehr zu sichern.

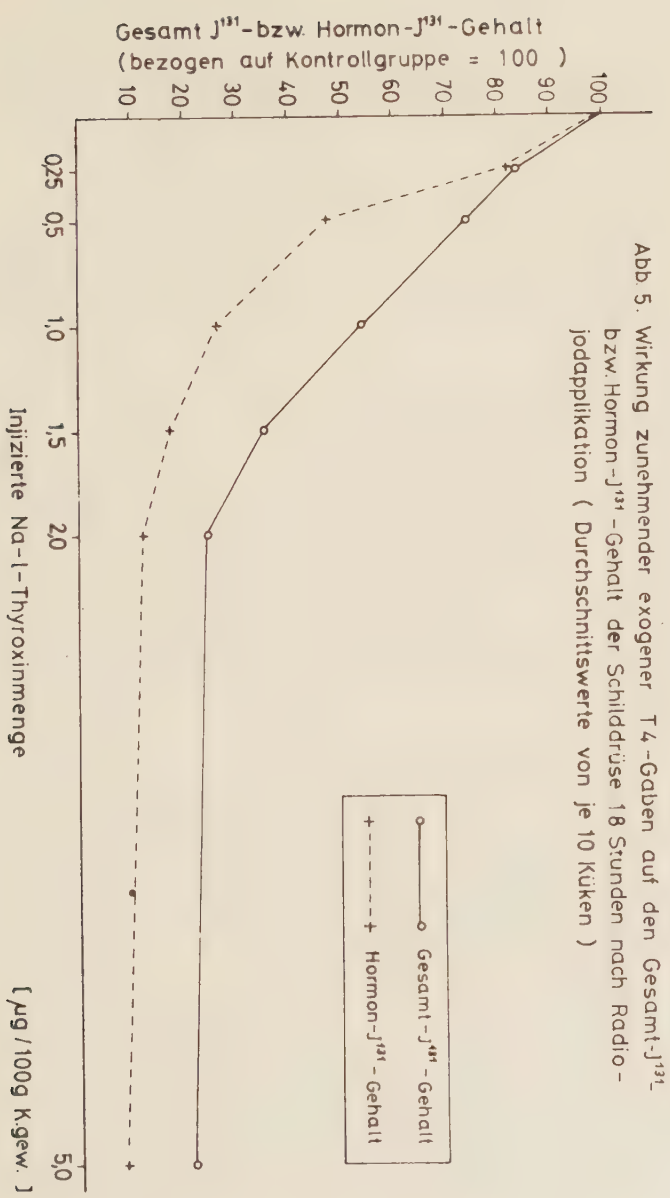
In Versuch 3 wurden bei 6 einzelnen Mastküken mittels einer J¹³¹/J¹²⁵-Doppelmarkierung die prozentuale 3 und 12 Stunden-Radiojodaufnahme und die entsprechende Verteilung des Radiojods in den verschiedenen Jodfraktionen bestimmt. Da der Zweck dieses Versuchs nur darin bestand, die relative Änderung des Verteilungsbildes von 3 nach 12 Stunden zu untersuchen, werden in Tabelle 8 die 12 Stunden-Werte in Prozent der 3 Stunden-Werte angegeben.

Tabelle 8

Relative zeitliche Änderung des Radiojodverteilungsbildes in der Schilddrüse zwischen 3 und 12 Stunden nach Radiojodgabe

Anzahl der Tiere	Gesamtradiojodgehalt	T 3 + T 4	DIT	MIT
	$\left(\frac{12 \text{ Stunden-Wert}}{3 \text{ Stunden-Wert}} \times 100 \right)$			
6	109 ± 13	183 ± 30	114 ± 12	94 ± 7

Mittelwerte von 6 Küken ± Standardabweichung der Einzelwerte



Aus diesen Daten sind folgende Tendenzen ersichtlich:

- Die prozentuale Radiojodaufnahme nimmt von 3 nach 12 Stunden nur noch geringfügig zu, d.h. die maximale Radiojodspeicherung ist beim Küken im wesentlichen 3 Stunden nach Radiojodgabe erreicht.
- Der Anteil des Radiojods in der Hormonfraktion (T 3 + T 4) ist nach 12 Stunden deutlich größer als nach 3 Stunden.
- Der Anteil des Radiojods in der DIT-Fraktion zeigt einen leichten Anstieg, während er in der MIT-Fraktion in entgegengesetzter Richtung tendiert.

C. Das proteingebundene Radiojod

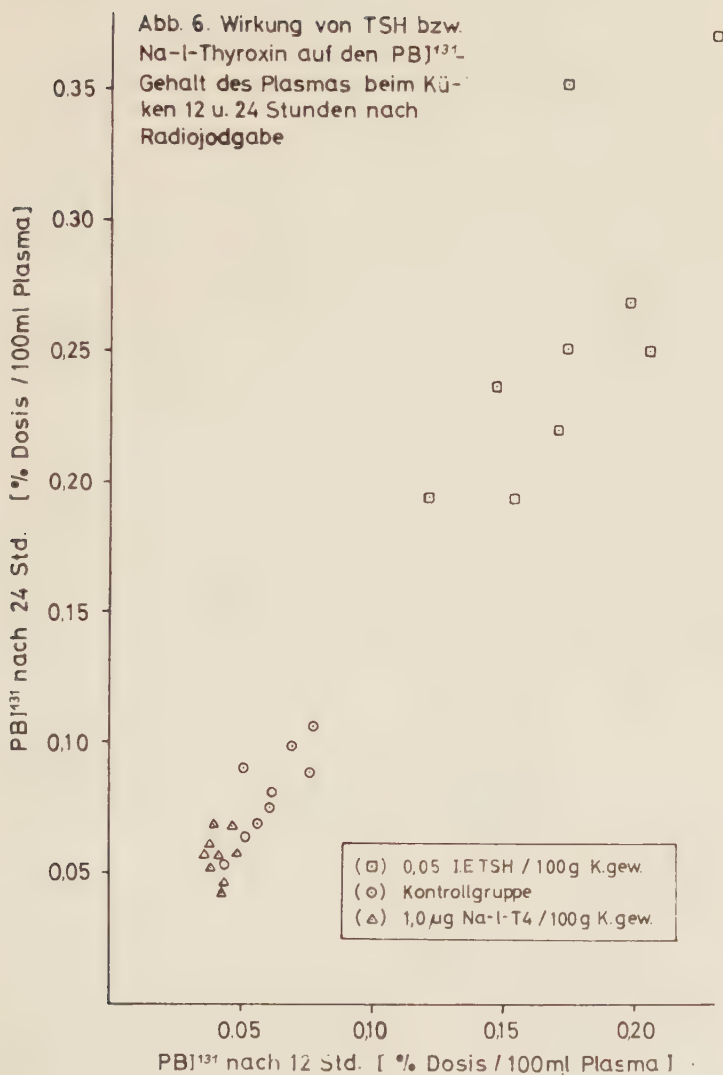
Es wurde die Wirkung von TSH bzw. Na-I-T 4 beim Küken auf den PBI^{131} -Gehalt des Plasmas 12 und 24 Stunden nach Radiojodapplikation untersucht. In Abbildung 6 sind von jedem Einzeltier auf der Abszisse die 12 Stunden-Werte und auf der Ordinate die 24 Stunden-Werte aufgetragen. In dieser Darstellung sind die Streuung der Einzelwerte sowie die Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen deutlich sichtbar.

D. Der T 3-J¹³¹-in vitro-Kohleadsorptionstest

Die unbefriedigende Reproduzierbarkeit des T 3-J¹³¹ in vitro-Kohleadsorptionstests machte zunächst eine Überprüfung der das Testergebnis beeinflussenden Faktoren notwendig.

1.) Vorversuche

In einer Reihe von Versuchen wurde der Einfluß verschiedener Versuchsbedingungen auf die T 3-J¹³¹-Adsorption an hämoglobinsaturierte Aktivkohle systematisch untersucht. Von den nachfolgend angegebenen Versuchsbedingungen wurde jeweils eine



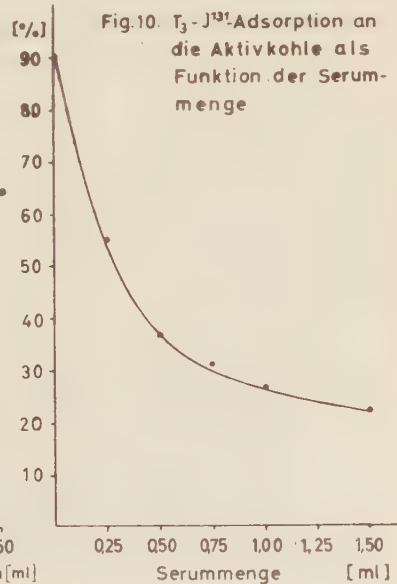
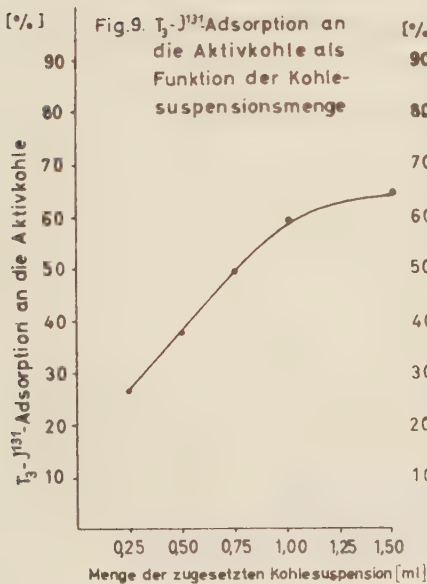
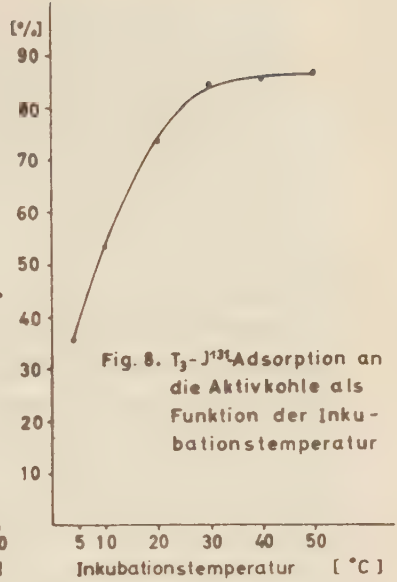
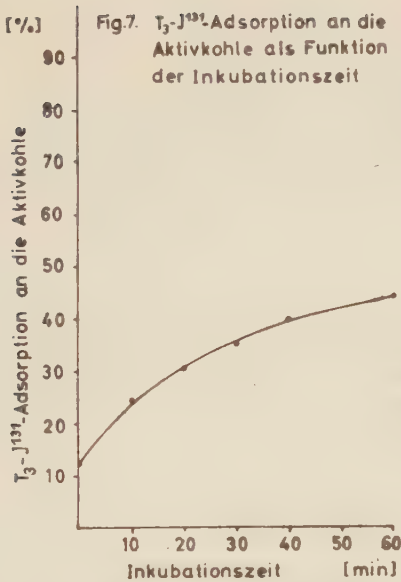
variiert, während die anderen konstant gehalten wurden:

- Inkubationszeit: 30 min
- Inkubationstemperatur: 4° C
- Kohlesuspensionsmenge: 0,5 ml
- Serummenge: 0,5 ml

In den Abbildungen 7 - 10 wird die funktionelle Abhängigkeit der T 3-J¹³¹-Adsorption an die Aktivkohle von diesen Variablen dargestellt. Für die Bestimmungen wurde ein in Portionen eingefrorenes Poolserum vom Schwein verwendet.

Das Ergebnis zeigt, daß die Verteilung des T 3-J¹³¹ zwischen Eiweißen und adsorbierendem System in jedem Falle nur eine Funktion der in vitro-Bedingungen ist. Durch gezielte Änderungen der Variablen kann das "Normalresultat" praktisch beliebig verschoben werden. Daraus resultiert die Notwendigkeit einer strengen Einhaltung der einmal festgelegten Versuchsbedingungen, um reproduzierbare Werte zu erhalten. Im einzelnen ist das Testresultat von folgenden methodischen Einflüssen abhängig:

- Inkubationstemperatur: Wie aus Abb. 8 hervorgeht, wird die T 3-J¹³¹-Adsorption durch geringfügige Schwankungen der Temperatur empfindlich beeinflusst. Es ist deshalb eine exakte Einhaltung der Temperatur des Eiswasserbades und eine Vor-
kühlung aller Gebrauchslösungen erforderlich.
- Inkubationszeit: Geringe Zeitdifferenzen von ± 1 Minute beeinflussen das Testresultat nur unwesentlich, so daß bis zu 10 Bestimmungen gleichzeitig ohne Berücksichtigung des Zeitfehlers durchgeführt werden können.
- Beim Einpipettieren der Kohlesuspension ist darauf zu achten, daß die Suspension vorher gründlich durchgemischt wird, da die Kohlepartikel relativ schnell sedimentieren.



- Die Kohlesuspension muß im Kühlschrank aufbewahrt werden und ist mindestens jeden zweiten Tag frisch anzusetzen, da sonst fälschlich erniedrigte Werte entstehen.
- Während zwischen frischen und einmal eingefrorenem Serum keine veränderten Werte gefunden wurden, ergab zweimaliges Einfrieren bereits eine signifikante Erniedrigung der T 3-J¹³¹-Adsorptionswerte.

Nach sorgfältiger Beachtung dieser Faktoren ergab sich unter den angegebenen Versuchsbedingungen bei 6 Bestimmungen aus einem eingefrorenen Rinderserumpool an verschiedenen Tagen ein mittlerer T 3-J¹³¹-Adsorptionswert von $31,2 \pm 1,1$ %. Die beobachteten Extremwerte lagen bei 30,0 und 32,7 %.

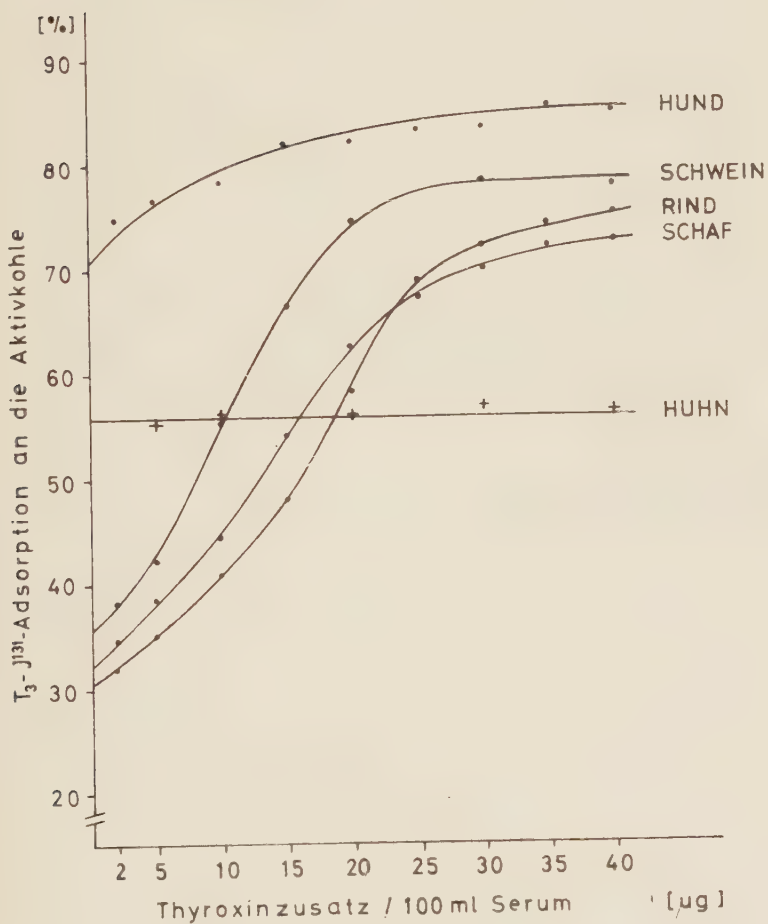
2.) Anwendung des T 3-J¹³¹-Tests bei verschiedenen Tierarten

Ein Kriterium für die Empfindlichkeit des T 3-J¹³¹-Tests ist seine Ansprechbarkeit auf eine **graduell** zunehmende Erhöhung des Serumhormonspiegels **durch** exogen zugeführtes T 4.

Es wurden deshalb dem Serum verschiedener Tierarten in vitro zunehmende Na-I-T 4-Mengen zugesetzt und anschließend die T 3-J¹³¹-Adsorptionswerte der Aktivkohle gemessen. Abb. 11 zeigt deutlich den unterschiedlichen Kurvenverlauf bei den einzelnen Tierarten. Die Ergebnisse können wie folgt zusammengefaßt werden:

- Die "normalen" T 3-J¹³¹-Adsorptionswerte (ohne T 4-Zusatz) liegen beim Huhn und Hund höher als bei den übrigen Tierarten. Durch gezielte Änderungen der Versuchsbedingungen (Inkubationszeit, Serummenge) können die Ausgangswerte zwar in einen tieferen Bereich verschoben werden, doch ändert sich dadurch der Kurvenverlauf nicht wesentlich.

Abb. 11. T_3 - J^{131} -Adsorption an die Aktivkohle in Abhängigkeit von der Thyroxinkonzentration im Serum bei verschiedenen Tierarten



- Das Huhn zeigt keine Korrelation zwischen dem T 4-Gehalt des Serums und der T 3-J¹³¹-Adsorption an die Aktivkohle, d.h. es kann mit Hilfe des T 3-J¹³¹ in vitro-Tests keine Information über relative Änderungen des Serumhormonspiegels erhalten werden.
- Beim Hund besteht bis zu einem bestimmten Sättigungsniveau ein signifikanter Anstieg der T 3-J¹³¹-Adsorptionswerte mit zunehmender T 4-Konzentration. Der Kurvenverlauf ist jedoch im Vergleich zum Rind, Schwein und Schaf flacher. Große Schwankungen des Hormonspiegels machen sich deshalb nur in geringfügigen Änderungen der T 3-J¹³¹-Adsorptionswerte bemerkbar.
- Beim Rind, Schwein und Schaf besteht in weiten Bereichen eine annähernd lineare Abhängigkeit der T 3-J¹³¹-Adsorptionswerte von der T 4-Konzentration im Serum. Ein vergleichbarer Kurvenverlauf wird auch beim Menschen gefunden (NAKAJIMA u. Mitarb., 1966).

Einzelheiten dieser Befunde werden im folgenden Teil der Arbeit diskutiert (vgl. Teil VI, D).

VI. DISKUSSION

A. Zur thyreoidalen Jodidclearance

Die bisher beim Geflügel beschriebenen Radiojodaufnahmeteste erfassen die anorganische Phase des Jods - d.h. den Eintritt des Jodids in die Schilddrüse - nur ungenau. Die Bestimmung des pro Zeiteinheit durch die Schilddrüse von Radiojod befreiten Plasmavolumens stellt eine präzisere Variante der üblichen Aufnahmeteste dar, da sie in enger Beziehung zur Jodspeicherungsrate steht und unabhängig von Schwankungen der renalen Jodclearance ist. Es wurde gezeigt, daß mittels einer J^{131}/J^{125} -Doppelmarkierung die Jodidclearance auch beim Geflügel in einfacher Weise bestimmt werden kann. Die Methode hat allerdings den Nachteil, daß sie die Tötung der Tiere voraussetzt. Grundsätzlich kann der Akkumulationsgradient auch am lebenden Tier gemessen werden, doch ist die in vivo-Messung früher Aufnahmewerte beim Küken aus bereits dargelegten Gründen problematisch.

Die Jodidclearance wurde an 2 Gruppen von Mastküken mit unterschiedlicher Ca-Dosierung im Futter bestimmt. Dabei zeigten die Tiere mit der hohen Ca-Dosierung (1,4 %) eine signifikant höhere Jodidclearance gegenüber den Tieren mit der niedrigen Ca-Dosierung (0,8 %). Bei der Interpretation dieses Befundes muß berücksichtigt werden, daß die Jodidclearance sowohl bei einer gesteigerten Schilddrüsentätigkeit als auch bei einem niederen Plasmajodidspiegel erhöht sein kann. Der letztere Faktor kann nicht mit Sicherheit ausgeschlossen werden, obwohl beide Gruppen über das Grundfutter dasselbe Jodangebot erhielten. Es besteht beispielsweise die Möglichkeit, daß ein hoher Calciumgehalt des Futters die Resorption von stabilem Jod im Darm herabsetzt bzw. dessen Ausscheidung über

die Nieren begünstigt und damit die PII-Konzentration beeinflußt. BOYLE u. Mitarb. (1966) fanden beim Menschen nach oraler Radiojodgabe eine verringerte thyreoidale Radiojodaufnahme, wenn gleichzeitig über das Trinkwasser hohe Ca-Dosen zugeführt wurden. Ein vergleichbarer Effekt blieb aus, nachdem das Calcium intravenös infundiert wurde. Dieser Befund spricht für einen möglichen Einfluß des Calciums auf die Jodresorption im Darm.

B. Zu den Untersuchungen des intrathyreoidalen Radiojodstoffwechsels

Die Ergebnisse der Untersuchungen über den Einbau des Radiojods in die Schilddrüsenhormone lassen erkennen, daß aus der relativen Verteilung des Radiojods in den einzelnen jodhaltigen Fraktionen zu einem definierten Zeitpunkt nach der Radiojodgabe Informationen über die Geschwindigkeit der Hormonsynthese erhalten werden können. Hierzu eignet sich besonders das DIT/MIT-Verhältnis. Der relative Radiojodanteil in der Hormonfraktion ($T_3 + T_4$) ist erwartungsgemäß bei gehemmter Schilddrüsenfunktion geringer als bei normaler Schilddrüsentätigkeit, doch finden wir ähnliche Werte auch bei gesteigerter Schilddrüsenfunktion. Dieser Befund kann dadurch erklärt werden, daß bei aktivierter Schilddrüsentätigkeit einerseits zwar ein beschleunigter Einbau des Radiojods in die Schilddrüsenhormone erfolgt, diese aber andererseits ebenso schnell in die Blutbahn entleert werden. In diesem Fall bietet sich das Verhältnis $DIT/(T_3 + T_4)$ zur Unterscheidung an, das, wie aus Tabelle 6 hervorgeht, bei der TSH-Gruppe deutlich größer als bei der T_4 -Gruppe ist.

Um einen möglichst optimalen Zeitpunkt für die Messung des Radiojodverteilungsbildes zu finden, wurde untersucht, innerhalb welchen Zeitraumes das Verteilungsbild die größten Schwankungen aufwies. Dieses änderte sich sowohl von 3 nach 12 Stunden als auch von 12 nach 36 Stunden in Richtung auf ein größeres DIT/MIT-Verhältnis und einen höheren relativen Radiojodanteil in der Hormonfraktion.

In beiden Zeiträumen war jedoch die Zunahme des DIT/MIT-Verhältnisses nur geringfügig. Untersuchungen von ROSENBERG u. Mitarb. (1964) deuten darauf hin, daß beim Kücken die größten Schwankungen des DIT/MIT-Verhältnisses innerhalb der ersten 30 Minuten nach der Radiojodgabe zu erwarten sind.

Eine graduell zunehmende Blockierung der Schilddrüse durch exogene T 4-Gaben (vgl. Tabelle 7 und Abbildung 5) bewirkte keine signifikante Änderung des DIT/MIT-Verhältnisses zwischen den einzelnen Gruppen, jedoch einen relativ steileren Abfall des Hormon-J¹³¹-Gehalts im Vergleich zum 18 Stunden-Gesamt-J¹³¹-Gehalt der Schilddrüse. Dieser Befund zeigt, daß durch die T 4-Substitution und die damit verbundene Blockierung der TSH-Ausschüttung nicht nur die Radiojodanreicherung der Schilddrüse, sondern auch der Einbau des Radiojods in das Hormon gehemmt wird.

Mit diesem Versuch sollte zugleich auch eine neue und einfachere Variante der bisherigen Substitutionsmethoden zur Bestimmung der Thyroxinsekretionsrate überprüft werden. Es wurde von der Annahme ausgegangen, daß sowohl die Jodaufnahme als auch die Hormonabgabe der Schilddrüse durch denselben Reglermechanismus, nämlich über die TSH-Ausschüttung der Hypophyse gesteuert werden. Bei einer Substitution des von der Schilddrüse pro Tag inkretierten endogenen Hormons durch eine äquivalente Menge von exogen zugeführtem T 4 wird die TSH-Produktion der Hypophyse eingestellt, d.h. die Schilddrüse ist jetzt abgesehen von einer geringgradigen autoregulatorischen Tätigkeit funktionell ruhig gestellt. In der klassischen Substitutionsmethode nach PIPES u. Mitarb. (1958) wird die maximale Hemmung der Radiojodabgabe als Indikator für die Einstellung der TSH-Produktion benutzt. Die Resultate der Abb. 5 berechtigen zu der Annahme, daß die maximale Hemmung der Radiojodaufnahme ein ebenso brauchbares Kriterium für die funktionelle Ruhigstellung der Schilddrüse

darstellt. Die maximale Suppression der Radiojodaufnahme wird im wesentlichen bei einer Substitutionsdosis von $2,0 \mu\text{g T 4}/100 \text{ g}$ Körpergewicht erreicht. Dieser Wert liegt durchaus im Bereich der nach anderen Methoden gefundenen täglichen TSR-Äquivalente (vgl. Teil II, C, 2.).

Verglichen mit den bisherigen Substitutionsmethoden ist die praktische Ausführung der Methode sehr einfach, da gruppenweise nur ein einziger Aufnahmewert ermittelt zu werden braucht. Da aus bereits früher dargelegten Gründen die tatsächliche TSR mit Hilfe der Substitutionsmethoden nur in grober Annäherung bestimmt werden kann, wäre durch weitere Untersuchungen zu prüfen, ob der nach der klassischen Substitutionsmethode betriebene weitaus größere Aufwand durch einen präziseren Aussagewert hinsichtlich einer Beurteilung der Schilddrüsenfunktion gerechtfertigt ist.

C. Zur Bestimmung des proteingebundenen Radiojods

MELLEN und HARDY (1957) haben nachgewiesen, daß die PBI-Konzentration im Plasma beim Geflügel kein gutes Kriterium für die Schilddrüsenfunktion darstellt, da sie im Gegensatz zum Menschen nicht nur sehr niedrig ist, sondern darüber hinaus auch kaum Schwankungen aufweist. Während der Schilddrüsenhormonspiegel im Blut beim Geflügel eine Größe mehr statischer Natur ist, wird durch Messung des PBI^{131} zu einem definierten Zeitpunkt nach der Radiojodapplikation die Dynamik der Hormonausschüttung erfaßt. Die Ergebnisse in Abb. 6 zeigen, daß die PBI^{131} -Konzentration im Plasma sowohl nach 12 als auch nach 24 Stunden sich als verlässlicher Indikator für den Funktionszustand der Schilddrüse erweist. Ähnlich wie die Geschwindigkeit der Radiojodspeicherung am besten durch die Messung früher Aufnahmewerte erfaßt werden kann, wird die Hormonausschüttungsrate am besten durch einen möglichst frühen PBI^{131} -Wert

widergespiegelt. Beim Menschen können bereits 2 Stunden nach der Radiojodgabe meßbare Mengen organisch gebundenen Radiojods in der Blutbahn nachgewiesen werden (BÖRNER u. MOLL, 1965). Ob beim Geflügel auf Grund des niedrigen Hormonspiegels zu diesem Zeitpunkt ebenfalls schon bestimmbare Mengen eiweißgebundenen Radiojods festgestellt werden können, muß durch weitere Untersuchungen bestätigt werden. Die Abtrennung des PBI¹³¹ kann noch verbessert werden, wenn anstelle von Trichloressigsäure ein Ionenaustauscherharz (IRA 400) verwendet wird (WINKLER u. Mitarb., 1962).

D. Zum T 3-J¹³¹ in vitro-Kohleadsorptionstest

Von den verschiedenen Modifikationen des T 3-J¹³¹-Tests hat sich der von HERBERT u. Mitarb. (1965) beschriebene T 3-J¹³¹-Kohleadsorptionstest wegen seiner Einfachheit als besonders geeignet für die routinemäßige Anwendung erwiesen. Der gegenüber methodischen Einflüssen hochempfindliche Test verlangt jedoch die strenge Einhaltung konstanter Versuchsbedingungen, damit er reproduzierbare Werte liefert.

Die Prüfung der Anwendbarkeit dieses Tests bei einigen Haustieren führte zu unterschiedlichen Ergebnissen. Während der Test beim Rind, Schwein und Schaf auf verhältnismäßig geringfügige Änderungen der Schilddrüsenhormonkonzentration im Serum anspricht, ist die relative Empfindlichkeit beim Hund bedeutend geringer. Beim Huhn versagt der Test vollständig.

Die Ursachen für diese Befunde sind in physiologischen Unterschieden zwischen den einzelnen Tieren hinsichtlich der hormontransportierenden Eiweißfraktionen zu suchen. Ähnlich wie beim Menschen werden beim Rind, Schwein und Schaf die Schilddrüsenhormone vorwiegend an ein inter γ -Globulin (TBG) gebunden (BLINCOE u. WEETH, 1967). Das TBG besitzt normalerweise eine große freie Reservekapazität.

zität für die Hormone. Werden durch T 4-Zugaben die freien Valenzen langsam abgesättigt, so wird das vom TBG abgedrängte T 3-J¹³¹ in immer stärkerem Maße an die Aktivkohle adsorbiert, bis sich schließlich ein Sättigungsniveau einstellt. Die Differenz zwischen der Sättigungskonzentration und der ursprünglichen Hormonkonzentration entspricht der freien TBG-Transportkapazität.

Beim Geflügel fehlt das TBG (SHELLABARGER u. TATA, 1961); stattdessen werden T 3 und T 4 locker an Albumine gebunden. Die Tatsache, daß durch Zugabe von stabilem T 4 keine Verdrängung des T 3-J¹³¹ stattfindet, deutet darauf hin, daß es sich hier um eine unspezifische Bindung der Schilddrüsenhormone handelt, wodurch der T 3-J¹³¹-Test prinzipiell unmöglich gemacht wird.

Nach SCHEUNERT und TRAUTMANN (1965) sind auch beim Hund Serumalbumine das Hauptvehikel für die Schilddrüsenhormone. Da durch T 4-Zugaben nachweislich bis zu einem bestimmten Grad eine selektive Verdrängung des T 3-J¹³¹ erreicht werden kann, ist anzunehmen, daß neben dem Albumin noch zusätzlich ein spezifisches Transportprotein vorhanden ist. Die freie Transportkapazität des Hundeserums ist jedoch, verglichen mit den Resultaten beim Rind, Schwein und Schaf erheblich geringer, so daß einer Anwendung des T 3-J¹³¹-Tests beim Hund nur beschränkte Bedeutung zukommen kann.

NAKAJIMA u. Mitarb. (1966) haben ein einfaches Verfahren beschrieben, um mit Hilfe des T 3-J¹³¹-Tests den absoluten Thyroxinspiegel im Serum zu bestimmen. Am Beispiel der in Abb. 11 dargestellten Adsorptionskurve vom Rind soll das Prinzip kurz erläutert werden:

Im steilen Teil der Kurve kann jedem beliebigen T 3-J¹³¹-Adsorptionswert eine bestimmte T 4-Menge zugeordnet werden. Aus einem Testserum - z.B. vom Huhn - lassen sich die Schilddrüsenhormone

mit Äthanol extrahieren. Die Extraktionsausbeute kann in einer Paralellbestimmung mit Hilfe von markiertem T 4 festgestellt werden. Der eingetrocknete Extrakt mit dem unbekannten Hormongehalt wird nun einem Rinderstandardserum zugesetzt und anschließend nach der beschriebenen Methode die T 3-J¹³¹-Adsorption an die Aktivkohle gemessen. Anhand der Eichkurve kann die dem gefundenen Adsorptionswert entsprechende "unbekannte" T 4-Menge abgelesen werden. Wird dieser Wert mit dem vorher festgestellten Ausbeutefaktor korrigiert, erhält man den absoluten Hormongehalt des Testserums.

E. Vergleich der verschiedenen Methoden

Die Frage nach der optimalen Leistungsfähigkeit der einzelnen Verfahren zur Beurteilung der Schilddrüsenfunktion kann nur im Zusammenhang mit der jeweiligen Problemstellung beantwortet werden.

Beim Rind, Schwein und Schaf ist der T 3-J¹³¹ in vitro-Test die Methode der Wahl. Der große Vorteil des in vitro-Tests ist seine einfache Anwendbarkeit, so daß er sich besonders für routinemäßige Untersuchungen an einem großen Tiermaterial eignet. Ferner braucht dem Versuchstier kein Radiojod appliziert zu werden; er kann daher am selben Tier beliebig oft wiederholt werden. Die weitgehende Unabhängigkeit von der exogenen Jodzufuhr erlaubt seine vergleichende Anwendung auch bei Tieren mit unterschiedlichem Jodangebot in der Futterration.

Diesen Vorteilen steht der Nachteil gegenüber, daß einige extrathyreoidale Faktoren, welche die Zusammensetzung der Eiweißfraktionen beeinflussen, zu Fehlinterpretationen führen können. Um diese Störfaktoren auszuschalten, kann als Ergänzung der absolute Schilddrüsenhormonspiegel entweder durch die chemische Bestimmung des PBI oder nach dem von NAKAJIMA u. Mitarb. (1966) beschriebenen Verfahren bestimmt werden.

Beim Geflügel ist eine Untersuchung der Schilddrüsenfunktion auf solche Verfahren beschränkt, die nach Inkorporation von Radiojod vornehmlich die Jodstoffwechseldynamik erfassen. Die in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Methoden gründen sich auf eine Analyse der einzelnen Phasen des Jodzyklus. Es konnte gezeigt werden, daß sowohl durch die Messung früher Radiojodaufnahmewerte als auch durch die Bestimmung des PBI¹³¹ zu einem definierten Zeitpunkt nach der Radiojodapplikation brauchbare Informationen über die Schilddrüsentätigkeit erhalten werden können. Durch chromatographische Untersuchungen der intrathyreoidalen Verteilung des Radiojods in den einzelnen Jodfraktionen kann ebenfalls ein Einblick in den Funktionszustand der Schilddrüse gewonnen werden. Gegenüber den anderen Untersuchungsmethoden stellt dieses Verfahren jedoch keine wesentliche Bereicherung dar, zumal der methodische Aufwand erheblich größer ist.

Differenziertere Aussagen über die Schilddrüsentätigkeit lassen sich gewinnen, wenn gleichzeitig mehrere Verfahren kombiniert werden. Sollte durch weitere Untersuchungen bestätigt werden, daß beim Geflügel 2 Stunden nach Radiojodgabe schon ein meßbarer Anteil organisch gebundenen Radiojods im Blut nachweisbar ist, dann bietet sich folgende optimale Kombinationsmöglichkeit an:

- 1.) Messung der 30 und 120 Minuten-Radiojodaufnahme mit Hilfe einer J^{131}/J^{125} -Doppelmarkierung.
- 2.) Bestimmung der Jodidclearance aus dem Aufnahmegradienten und der mittleren Serumradiojodkonzentration desselben Zeitraumes.
- 3.) Messung des 2 Stunden-PBI¹³¹ nach Abtrennung mit einem Ionenaustauscher.

Da die Geschwindigkeit des Radiojodumsatzes wesentlich von der Größe der intra- und extrathyreoidalen Jodverteilungsräume mitbestimmt wird, ist eine sinnvolle Anwendung dieser Testkombination nur dann möglich, wenn genetisch einheitliche Tiere mit gleichem exogenen Jodangebot miteinander verglichen werden sollen. Ist diese Voraussetzung nicht erfüllt, dann muß anderen Schilddrüsenfunktionstesten der Vorzug gegeben werden.

Hier empfiehlt sich die Messung der Halbwertszeit, mit der markiertes T 3 bzw. T 4 aus der Blutbahn abwandert (HENDRICH u. TURNER, 1967), oder die Bestimmung des TSR-Äquivalents nach der T 4-Substitutionsmethode von PIPES u. Mitarb. (1958) bzw. nach der in dieser Arbeit vorgeschlagenen einfacheren Modifizierung.

VII. ZUSAMMENFASSUNG

- 1.) Mit Hilfe einer J^{131}/J^{125} -Doppelmarkierung wurde beim Küken die prozentuale 30 und 120 Minuten-Radiojodaufnahme der Schilddrüse gemessen. Aus dem Aufnahmegradien und der mittleren Serumradiojodkonzentration wurde die thyreoidale Jodidclearance berechnet. Diese wurde bei 2 Gruppen von Mastküken mit verschiedenem Calciumgehalt in der Fütterung bestimmt. Die Tiere mit der hohen Ca-Dosierung im Futter (1,4 %) hatten im Vergleich zu den Tieren mit der niedrigen Ca-Dosierung (0,8 %) eine signifikant größere Jodidclearance.
- 2.) Durch papierchromatographische Trennung der verschiedenen Jodfraktionen in den Schilddrüsenhydrolysaten vom Küken ließ sich der Einbau des Radiojods in die Schilddrüsenhormone bei unterschiedlichem Funktionszustand des Organs verfolgen. Aus dem Verteilungsmuster des Radiojods in den einzelnen Fraktionen zu einem definierten Zeitpunkt nach der Radiojodapplikation konnten Hinweise über die Geschwindigkeit des intrathyreoidalen Radiojodstoffwechsels erhalten werden. Hierzu eignete sich besonders das Verhältnis $DI^{131}T/MI^{131}T$ bzw. $DI^{131}T/Hormon-J^{131}$
- 3.) Es wurde das proteingebundene Radiojod beim Küken 12 und 24 Stunden nach Radiojodgabe bestimmt. Gegenüber unbehandelten Kontrolltieren zeigten Tiere, deren Schilddrüse mit TSH stimuliert wurde, sowohl nach 12 als auch nach 24 Stunden deutlich erhöhte PBI^{131} -Werte. Eine Hemmung der Schilddrüsen-tätigkeit durch exogene T 4-Gaben hatte eine signifikante Erniedrigung der PBI^{131} -Werte zur Folge.

- 4.) Einer größeren Anzahl von Mastküken wurden an 3 aufeinander folgenden Tagen gruppenweise verschiedene T 4-Mengen verabreicht. Im Anschluß an die letzte T 4-Injektion wurde die 18 Stunden-Radiojodaufnahme gemessen. Die durchschnittliche Radiojodaufnahme der einzelnen Gruppen nahm mit zunehmender T 4-Substitution kontinuierlich ab, um sich bei einer täglichen Dosis von $2,0 \mu\text{g T 4}/100 \text{ g Körpergewicht}$ einem Grenzwert zu nähern. Diese T 4-Dosis liegt im Bereich der beim Küken nach anderen Substitutionsmethoden gefundenen täglichen TSR-Äquivalente.
- 5.) Der T 3-J¹³¹ in vitro-Kohleadsorptionstest wurde auf seine Anwendbarkeit beim Rind, Schwein, Schaf, Hund und Huhn untersucht. Um die Ansprechbarkeit des Tests auf eine veränderte Schilddrüsenhormonkonzentration zu prüfen, wurden dem Serum der einzelnen Tierarten in vitro zunehmende T 4-Mengen zugesetzt. Dabei zeigte sich, daß dem T 3-J¹³¹-Test beim Geflügel kein Aussagewert zukommt. Während der Test beim Hund nur bedingt anwendbar ist, kann er beim Rind, Schwein und Schaf als eine in vieler Hinsicht vorteilhafte Untersuchungsmethode zur Beurteilung der Schilddrüsenfunktion empfohlen werden.

VIII. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

AIU	= Absolute iodine uptake (= absolute Jodaufnahme)
Ci	= Curie
DIT	= Dijodtyrosin
ETT	= Extrathyroidal thyroxine (= das gesamte extrathyreoidale Thyroxin)
HVL	= Hypophysen-Vorderlappen
HWZ	= Halbwertszeit
I. E.	= Internationale Einheiten
MIT	= Monojodtyrosin
PBI	= Protein-bound iodine (= proteingebundenes Jod im Plasma)
PII	= Plasma inorganic iodine (= anorganisches Jod im Plasma)
p.p.b.	= parts per billion (= Konzentration 10^{-9})
PTU	= Propylthiouracil
T 3	= Trijodthyronin
T 4	= Tetrajodthyronin (= Thyroxin)
TBA	= Thyroxin-bindendes Albumin
TBG	= Thyroxin-bindendes Globulin
TBPA	= Thyroxin-bindendes Praealbumin
TDS	= Thyroxine distribution space (= Thyroxin-Verteilungsraum)
TSH	= Thyroid stimulating hormone (= Thyreotropes Hormon)
TSR	= Thyroid hormone secretion rate (= Schilddrüsen-Hormonsekretionsrate)

IX. LITERATURVERZEICHNIS

BENOTTI, J., BENOTTI, A.:

Protein-bound iodine, total iodine and butanol-extractable iodine by partial automation.

Clin. Chem. 9, 408 (1963)

BERSON, S. A., YALOW, R. S.:

Quantitative aspects of iodine metabolism.

J. Clin. Invest. 33, 1533 (1954)

BERSON, S. A., YALOW, R. S., SORRENTINO, J., ROSWIT, B.:

The determination of thyroïdal and renal plasma iodine-131 clearance rates as a routine diagnostic test of thyroid dysfunction.

J. Clin. Invest. 31, 141 (1952)

BLINCOE, C., WEETH, H. J.:

Serum binding of radiothyroxine in sheep and cattle.

Animal Sci. 26, 372 (1967)

BÖRNER, W., MOLL, E.:

Die frühe Erfassung der Hormonphase bei der Schilddrüsenfunktionsprüfung mit Radiojod durch die 2 Stunden-Umwandlungsrate.

Klin. Wschr. 43, 79 (1965)

BOYLE, J. A., GREIG, W. R., FULTON, S., DALAKOS, T. G.:

Excess dietary calcium and human thyroid function.

J. Endocr. 34, 531 (1966)

COMAR, C. L., BRONNER, F.:

Mineral metabolism, an advanced treatise.

Academic Press, New York and London (1962), Vol. 2, 221

DIMITRIADOU, A., SUWANIK, R., FRASER, R.:

Comparison of intra-thyroidal I^{127} and I^{131} metabolism in endemic and sporadic goitre.

Nucl. Med. Suppl. 2, 241 (1963)

ELLENBERGER-BAUM:

Handbuch der vergleichenden Anatomie der Haustiere

Springer, Berlin, 1109 (1943)

ESCOBAR DEL REY, F., MORREALE DE ESCOBAR, G.,
GARCIA GARCIA, M. D., MOURIZ GARCIA, J.:

Increased secretion of thyrotrophic hormone in rats with a depressed peripheral deiodination of thyroid hormone and a normal or high plasma PBI.

Endocrinology 71, 859 (1962)

GRÄNICHER, R., BURGER, A., GFELLER, E., STUDER, H.:
Eine einfache Gelfiltrationsmethode zur routinemäßigen Messung der in vitro-Bindung von markiertem Trijodthyronin an Serum-eiweiße.

Zschr. klin. Chem. u. klin. Biochem. 3, 117 (1967)

HAMOLSKY, M. W., STEIN, M., FREEDBERG, A. S.:

The thyroid hormone-plasma protein complex in man.

II. A new in vitro method for study of "uptake" of labelled hormonal components by human erythrocytes.

J. Clin. Endocr. 17, 33 (1957)

HENDRICH, C. E., TURNER, C. W.:

Time relations in the alteration of thyroid gland function in fowls.

Poultry Sci. 42, 1190 (1963)

HENDRICH, C. E., TURNER, C. W.:

A comparison of the effects of environmental temperature changes and 4,4°C cold on the biological half life ($t_{1/2}$) of thyroxine- J^{131} in fowls.

Poultry Sci. 46, 3 (1967)

HERBERT, V., GOTTLIEB, C. W., LAU, K. S., GILBERT, P.,
SILVER, S.:

Adsorption of J^{131} -triiodothyronine from serum by charcoal as an in vitro test of thyroid function.

J. Lab. Clin. Med. 66, 814 (1965)

HOLLAND, J. P.:

The protein-bound iodine in the fowl.

Poultry Sci. 42, 1446 (1963)

HUTCHINS, M. O.:

Examination of erythrocyte J^{131} - T_4 and J^{131} - T_3 uptake test for thyroid function in chickens.

Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 120, 581 (1965)

INGBAR, S. H., FREINKEL, N.:

Simultaneous estimation of rates of thyroxine degradation and thyroid hormone synthesis.

J. Clin. Invest. 34, 808 (1955)

JOYET, G.:

Die Anfangstangente der Speicherkurve und die verschiedenen Radiojodteste.

Nucl. Med. Suppl. 2, 85 (1965)

KEENAN, D., NIKOLAICZUK, N., OLIVER, W. F.:

Retention of iodine by the chick.

Poultry Sci. 32, 908 (1953)

KONO, T., VAN MIDDLESWORTH, L., ASTWOOD, E. B.:

Chemical identification of iodine-containing compounds in human serum.

Endocrinology 66, 845 (1960)

KOUTRAS, D. A., ALEXANDER, W. D., BUCHANAN, W. W., CROOKS, J., WAYNE, E. J.:

Studies of stable iodine metabolism as a guide to the interpretation of radioiodine tests.

Acta Endocr. 37, 597 (1961)

MELLEN, W. J., HARDY, L. B.:

Blood protein-bound iodine in the fowl.

Endocrinology 60, 547 (1957)

MITCHELL, M. L.:

Resin uptake of radiothyroxine in sera from non-pregnant and pregnant women.

J. Clin. Endocr. 18, 1437 (1958)

NAKAJIMA, H., KURAMOCHI, M., HORIGUCHI, T., KUBO, S.:

A new and simple method for the determination of thyroxine in serum.

J. Clin. Endocr. 26, 99 (1966)

OPPENHEIMER, J. H., SURKS, M. I.:

Determination of free thyroxine in human serum: a theoretical and experimental analysis.

J. Clin. Endocr. 24, 785 (1964)

PICKER GmbH, Deutsche, Espelkamp:
Thyrodex T-3 System.
Bulletin 19 (1966)

PIPES, G. W., PREMACHANDRA, B. N., TURNER, C. W.:
Measurement of the thyroxine hormone secretion rate of individual fowls.
Poultry Sci. 37, 36 (1958)

PLASKETT, L. G., BARNABY, C. F., LLOYD, G. I.:
Intrathyroidal iodine metabolism in the rat.
Biochem. J. 87, 473 (1963)

PREMACHANDRA, B. N., PIPES, G. W., TURNER, C. W.:
Thyroxine secretion rates of two strains of New Hampshire chickens selected for high and low response to thiouracil.
Poultry Sci. 37, 399 (1958)

ROGLER, J. C., PARKER, H. E., ANDREWS, F. N.,
CARRICK, C. W.:
The iodine requirements of the breeding hen.
Poultry Sci. 40, 1546 (1961)

ROSENBERG, L. L., GOLDMAN, M., LA-ROCHE, G.,
DIMICK, M. K.:
Thyroid function in rats and chickens. Equilibration of injected iodide with existing thyroidal iodine in Long-Evans rats and White Leghorn chickens.
Endocrinology 74, 212 (1964)

ROSENBERG, L. L., LA ROCHE, G.:
Determination of iodoamino acid composition of rat thyroidal iodoprotein: some sources of serious error.
Endocrinology 75, 776 (1964)

SANCHEZ MARTIN, J. A.:
Grundlagen der Schilddrüsenfunktionstests und ihrer klinischen Auswertung.
Münch. med. Wschr. 15, 841 (1967)

SCHEUNERT, A., TRAUTMANN, A.:
Lehrbuch der Veterinärphysiologie.
5. Aufl., Parey, Berlin und Hamburg (1965), 67.

SCHMIDT, H. J., WITTE, S., WOLF, F., HENNING, N.:
Autoradiographische Ergebnisse des menschlichen Jodraffungs-
mechanismus und intrathyreoidalen Jodstoffwechsels.
Nucl. Med. Suppl. 2, 109 (1965)

SHELLABARGER, C. J., TATA, J. R.:
Effect of administration of human serum thyroxine-binding
globulin on the disappearance rates of thyroid hormones in
the chicken.
Endocrinology 68, 1056 (1961)

SINGH, A., REINEKE, E. P., RINGER, R. K.:
Comparison of thyroid secretion rates in chickens as determined
by (1) goitre prevention, (2) thyroid hormone substitution,
(3) direct output and (4) thyroxine degradation methods.
Poultry Sci. 47, 205 (1968)

TONG, W., RAGHUPATHY, E., CHAIKOFF, I. L.:
Recovery of thyroxine from thyroid hydrolyzed with pancreatic
and bacterial proteases.
Endocrinology 72, 931 (1963)

WAYNE, E. J., KOUTRAS, D. A., ALEXANDER, W. D.:
Clinical aspects of iodine metabolism.
Blackwell Scientific Publications, Oxford (1964)

WENTWORTH, B. C., MELLEN, W. J.:
Circulating thyroid hormones in domestic birds.
Poultry Sci. 40, 1275 (1961)

WINKLER, C., ZUBRZYCKI, Z., MENTZEL, G.:
Vergleichende Untersuchungen über Methoden zur Bestimmung des
eiweißgebundenen Radiojods im Plasma bei Schilddrüsenfunktions-
prüfungen.
Klin. Wschr. 38, 965 (1962)

Herrn Professor Dr. Kurt Bronsch danke ich für die Überlassung des Themas und die Durchsicht der Arbeit.

Herrn Dr. Konrad Lörcher gilt mein besonderer Dank für die stets gewährte Hilfe bei der Durchführung der Versuche und die fachliche Beratung beim Anfertigen der Arbeit.

Frau Inge Grosser und Frau Anneliese Lenke möchte ich für die Anleitung und Unterstützung im Labor herzlich danken.

Mein Dank gilt ebenso allen Mitarbeitern des Instituts für ihre freundliche Hilfsbereitschaft.

Lebenslauf

Am 3. November 1939 wurde ich als Sohn des Mechanikermeisters Robert Scherzinger und seiner Ehefrau Gertrud, geb. Hoch, in Villingen/Schwarzwald geboren.

Von 1945 bis 1952 besuchte ich die Volksschule in Vöhrenbach und anschließend das Aufbaugymnasium Maria Tann b. Villingen. Im Mai 1956 wechselte ich zum Gymnasium in Neustadt/Schwarzwald über, wo ich am 21. März 1959 die Reifeprüfung ablegte.

Nach dreijähriger Dienstzeit bei der Bundeswehr wurde ich zum Sommersemester 1962 an der Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin immatrikuliert. Im Oktober 1963 begann ich an der gleichen Universität mit dem Studium der Veterinärmedizin, das ich am 9. Mai 1968 mit der tierärztlichen Prüfung abschloß. Die Approbation erhielt ich im Januar 1969.

Seit Oktober 1968 bin ich am Institut für Tierzucht und Tierernährung der Freien Universität Berlin als wissenschaftlicher Mitarbeiter tätig.

